Für die Vollständigkeit und Richtigkeit der einzelnen Inhalte der Vorlesung 61-020 „Einführung in die Pflanzenphysiologie“ kann keine Gewähr übernommen werden.

Es ist nicht gestattet, diese Vorlesung oder Teile dieser Vorlesung ohne ausdrückliche Genehmigung der Dozentinnen und Dozenten für die Wiedergabe im Druck, Vorträge oder eine andere Art der Veröffentlichung, auch nicht im Internet, zu verwenden. Für Teile der Abbildungen liegen die Rechte bei Buchverlagen, wissenschaftlichen Zeitschriften oder bei den Dozentinnen und Dozenten dieser Veranstaltung.

Hamburg, 7.11. 2022 Prof. Stefan Hoth

Geplanter Ablauf der Vorlesung

17. Oktober 2022	Wasserhaushalt
24. Oktober 2022	Mineralstoffernährung
7. November 2022	Mineralstoffernährung/ Bodenkunde
14. November 2022	Photosynthese
21. November 2022	Photosynthese
28. November 2022	Photosynthese
5. Dezember 2022	Photosynthese
12. Dezember 2022	Photosynthese
19. Dezember 2022	Pflanzenhormone
9. Januar 2023	Pflanzenhormone
16. Januar 2023	Pflanzenhormone
23. Januar 2023	Photosynthese/ Licht als Entwicklungsstimulus
30. Januar 2023	Licht als Entwicklungsstimulus

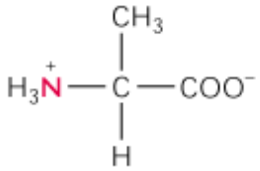
Stickstoff

Stickstoffmangel

Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

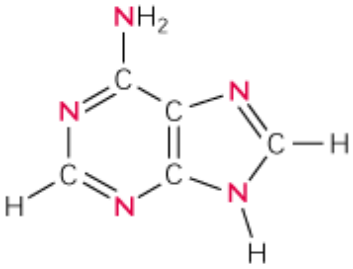
- N ist **der** limitierende Faktor für das Pflanzenwachstum.

Stickstoffmangel

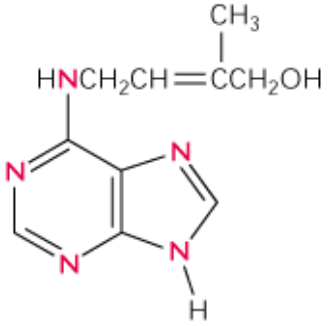


Alanine
(an amino acid)

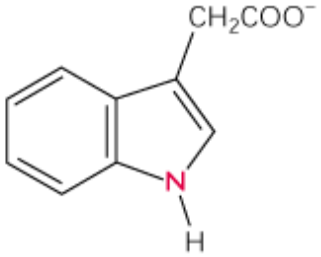
Nicotine
(an alkaloid)



Adenine
(a nucleoside base)

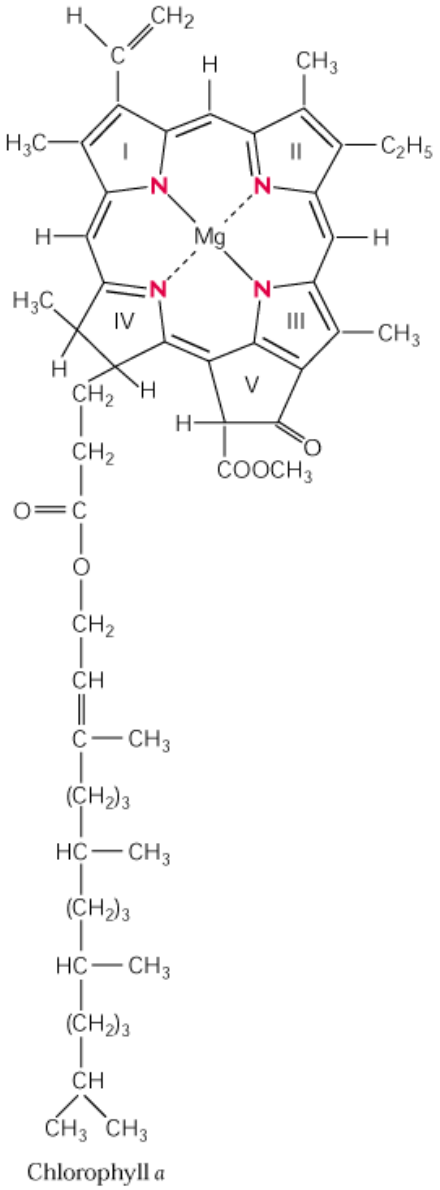


Zeatin (*Zea mays*)
(a cytokinin)



Indoleacetic acid
(IAA, an auxin)

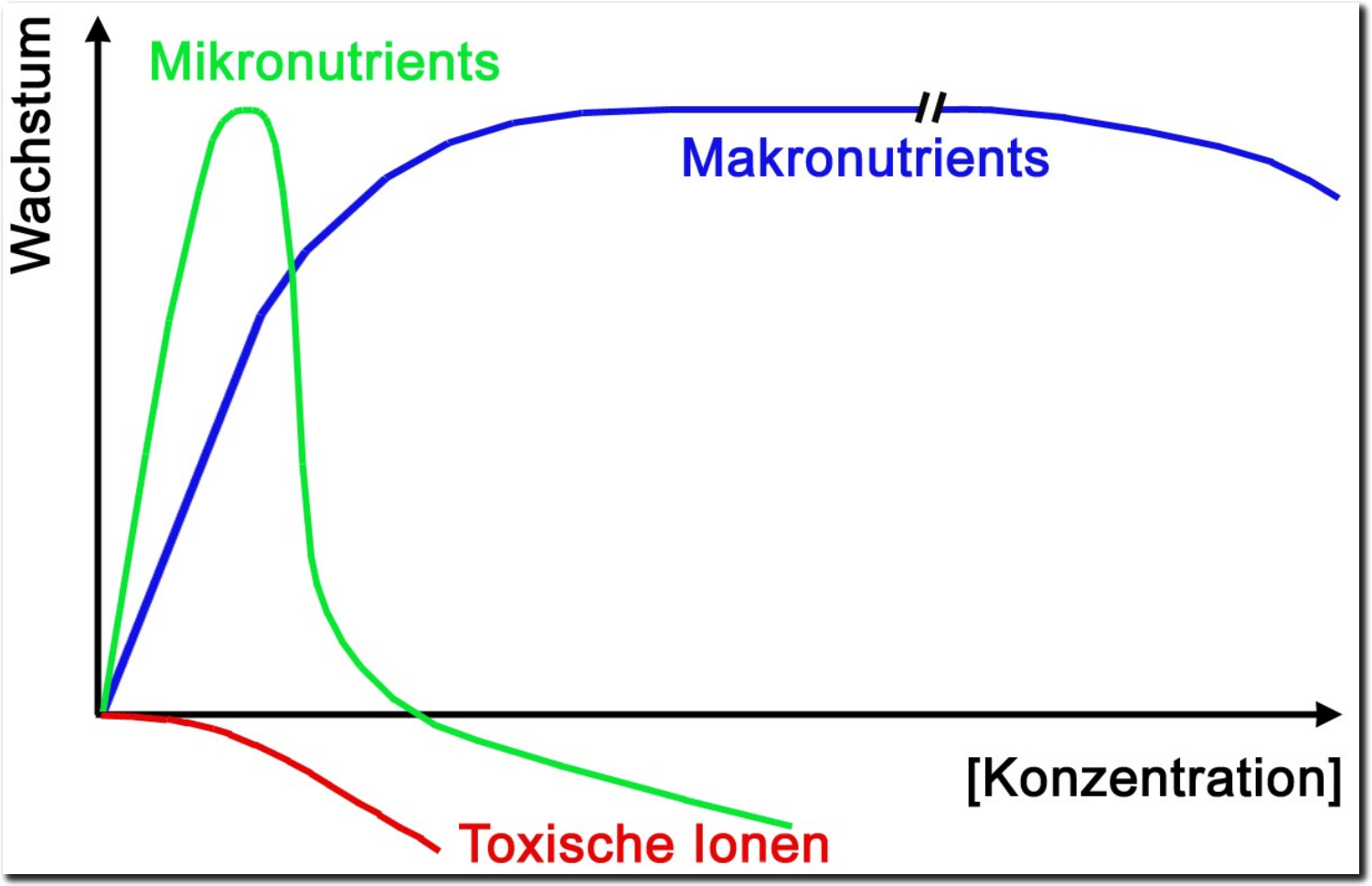
Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006



Chlorophyll *a*

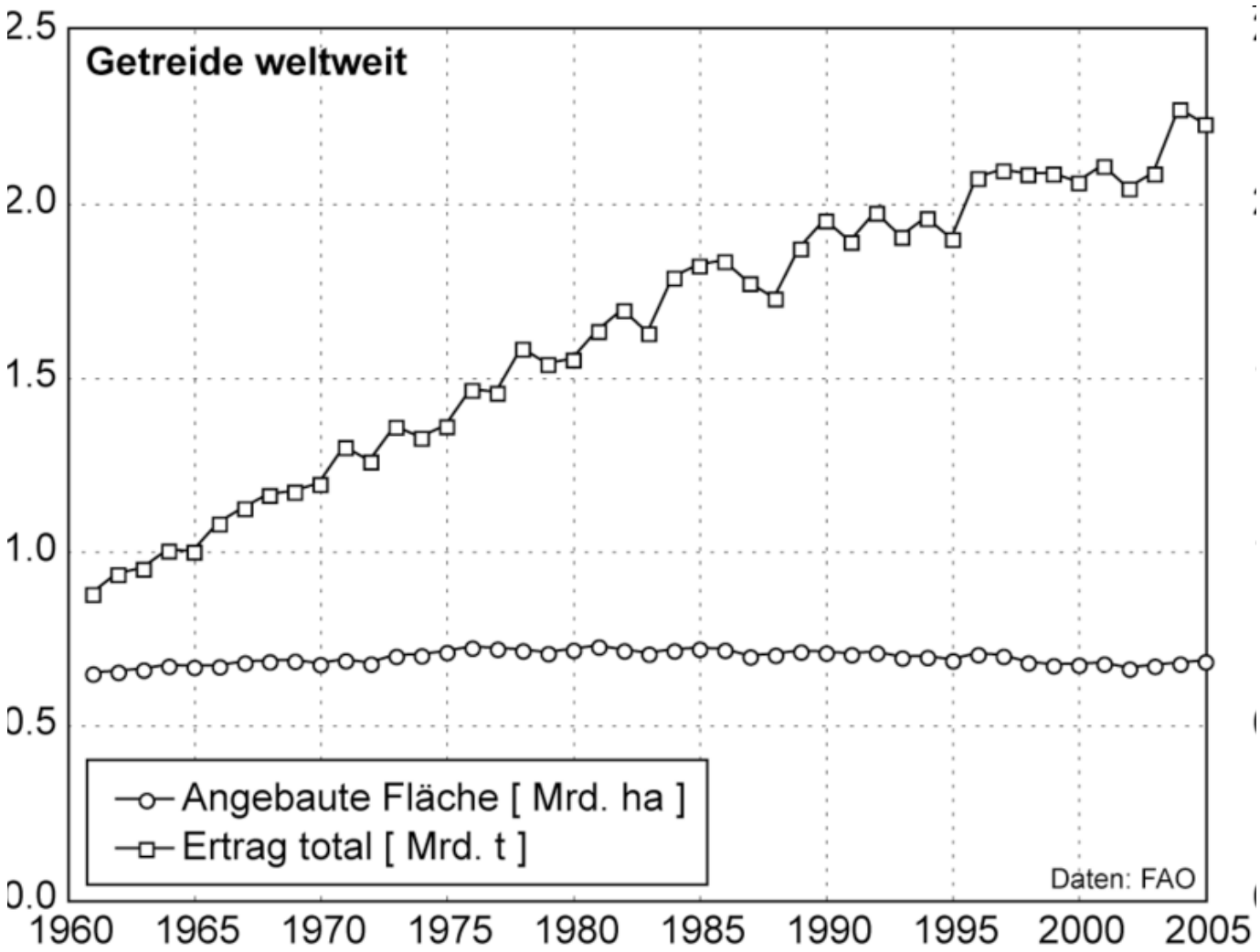
- N ist **der** limitierende Faktor für das Pflanzenwachstum.

Düngung verbessert das Wachstum



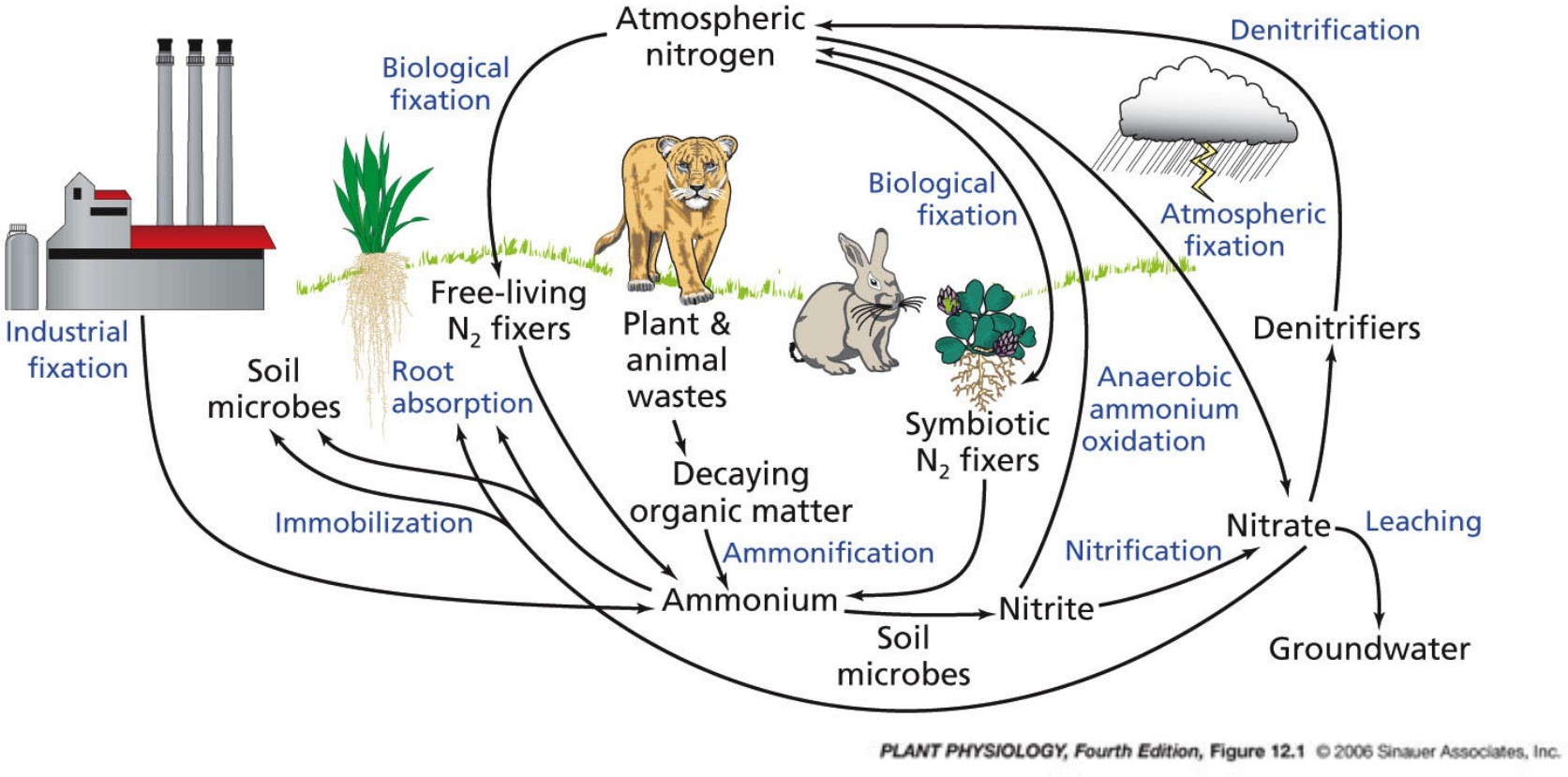
Düngung verbessert das Wachstum

Düngung steigert den Ertrag



Der Stickstoffkreislauf

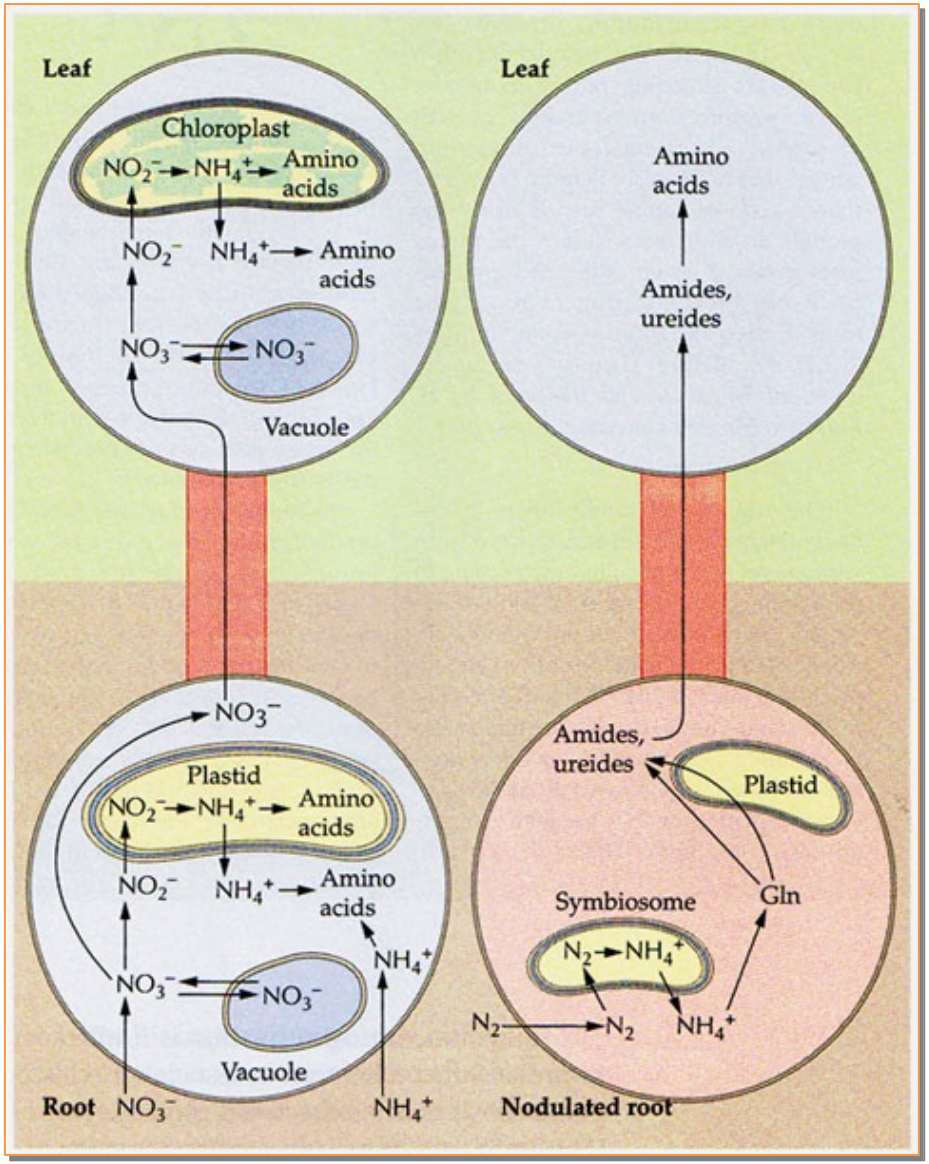
77% der Luft ist N_2



Pflanzen benötigen NH_4^+ zum Einbau in z.B. Aminosäuren

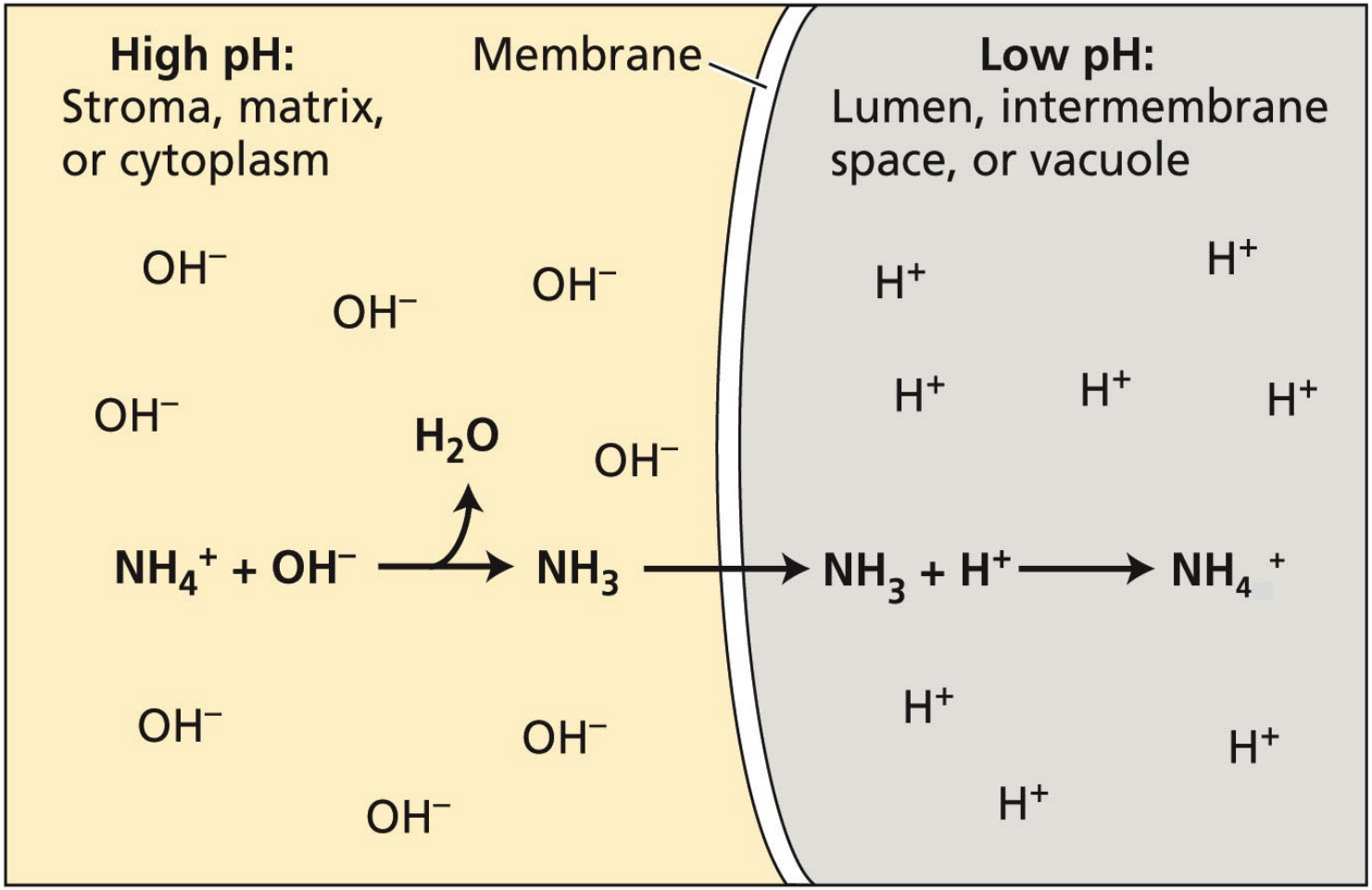
Stickstoffversorgung

Die N-Versorgung der Pflanzen geschieht meist über Nitrat (NO_3^-), seltener über Ammonium (NH_4^+) und nur bei bestimmten Pflanzengruppen über molekularen Stickstoff (N_2) mit Hilfe symbiontischer Mikroorganismen



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

NH_4^+-Überschuss ist toxisch



- pH-Gradienten werden beeinträchtigt!

PLANT PHYSIOLOGY, Fourth Edition, Figure 12.2 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

Stickstoff

1. Nitratassimilation

Oxidationsstufen von Stickstoff

Bezeichnung		Oxidationsstufen
org. N	Aminosäuren, Proteine, Harnstoff	-3
NH_3, NH_4^+	Ammoniak, Ammonium,	-3
N_2H_4	Hydrazin (Raketentreibstoff)	-2
NH_2OH	Hydroxylamin	-1
N_2	Stickstoff	0
N_2O	Distickstoffoxid (Lachgas)	+1
NO	Stickstoffmonoxid	+2
HNO_2, NO_2^-	Salpetrige Säure, Nitrit-Ion	+3
NO_2	Stickstoffdioxid	+4
HNO_3, NO_3^-	Salpetersäure, Nitrat-Ion	+5

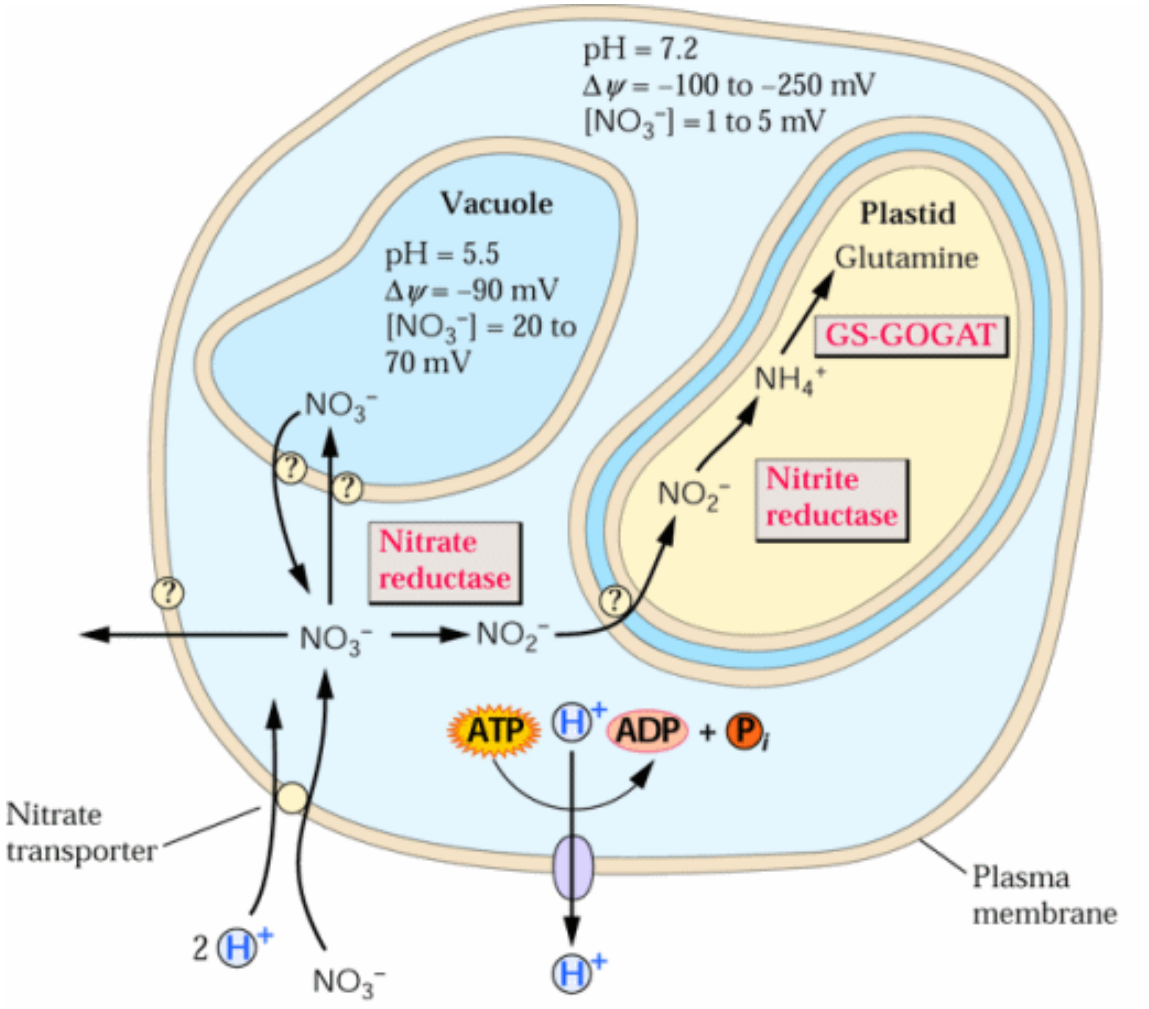
Nicht-oxidierte N-Formen

oxidierte N-Formen

Schritte der Nitratassimilation

- Aufnahme des NO_3^- aus dem Bodenwasser
- Verteilung des NO_3^- in der Pflanze
- Aufnahme des NO_3^- ins Cytoplasma
- Reduktion des NO_3^- im Cytoplasma zu NO_2^-
- Transport des NO_2^- in Plastiden
- Reduktion des NO_2^- im Plastiden zu NH_4^+
- Einbau des NH_4^+ ins Protein

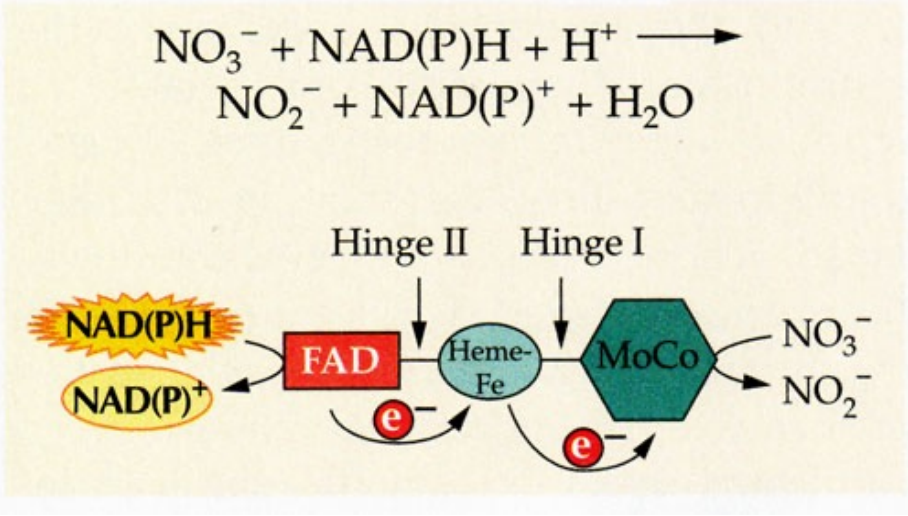
Schritte der Nitratassimilation



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

Reduktion von Nitrat zu Nitrit

Die NO_3^- -Reduktase



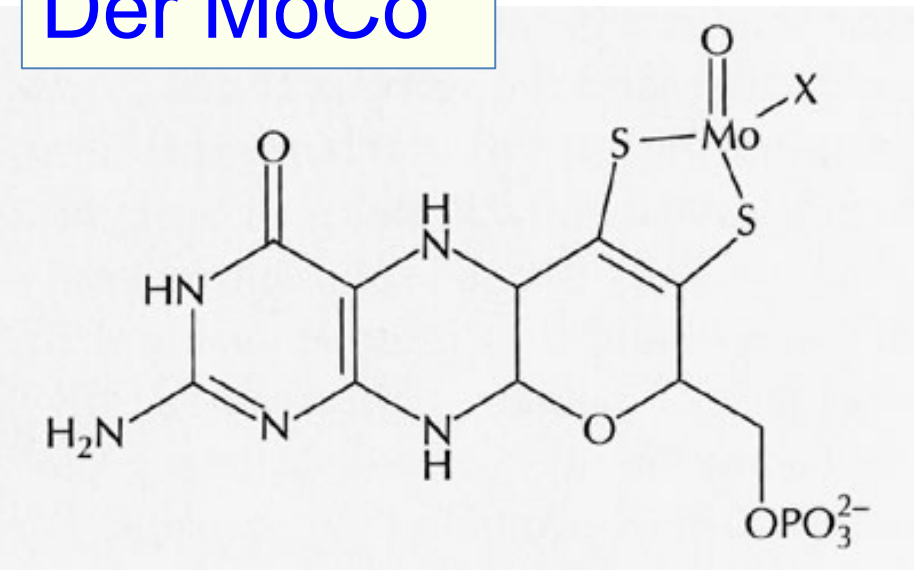
- Komplexes Metallo-Enzym
- Aktiv als Homodimer oder Homotetramer
- Bindestellen für NAD(P)H und für Nitrat

- 3 Cofaktoren pro Nitratreduktase Untereinheit:
  1 FAD, 1 Eisen-Häm, 1 Molybdän-Cofaktor

➔ bilden eine intramolekulare e^--Transportkette

Reduktion von Nitrat zu Nitrit

Der MoCo

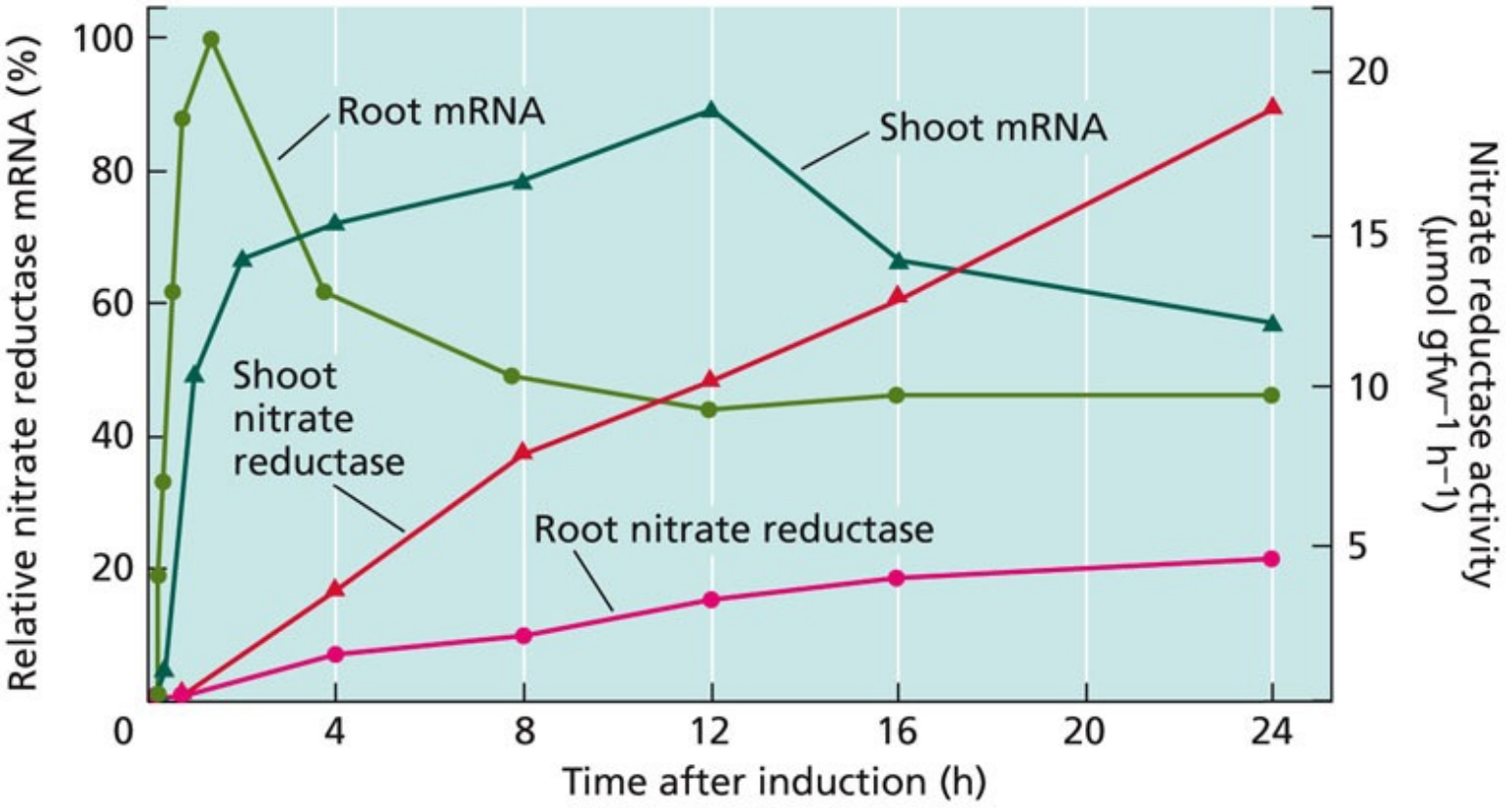


- Komplexes Metallo-Enzym
- Aktiv als Homodimer oder Homotetramer
- Bindestellen für NAD(P)H und für Nitrat

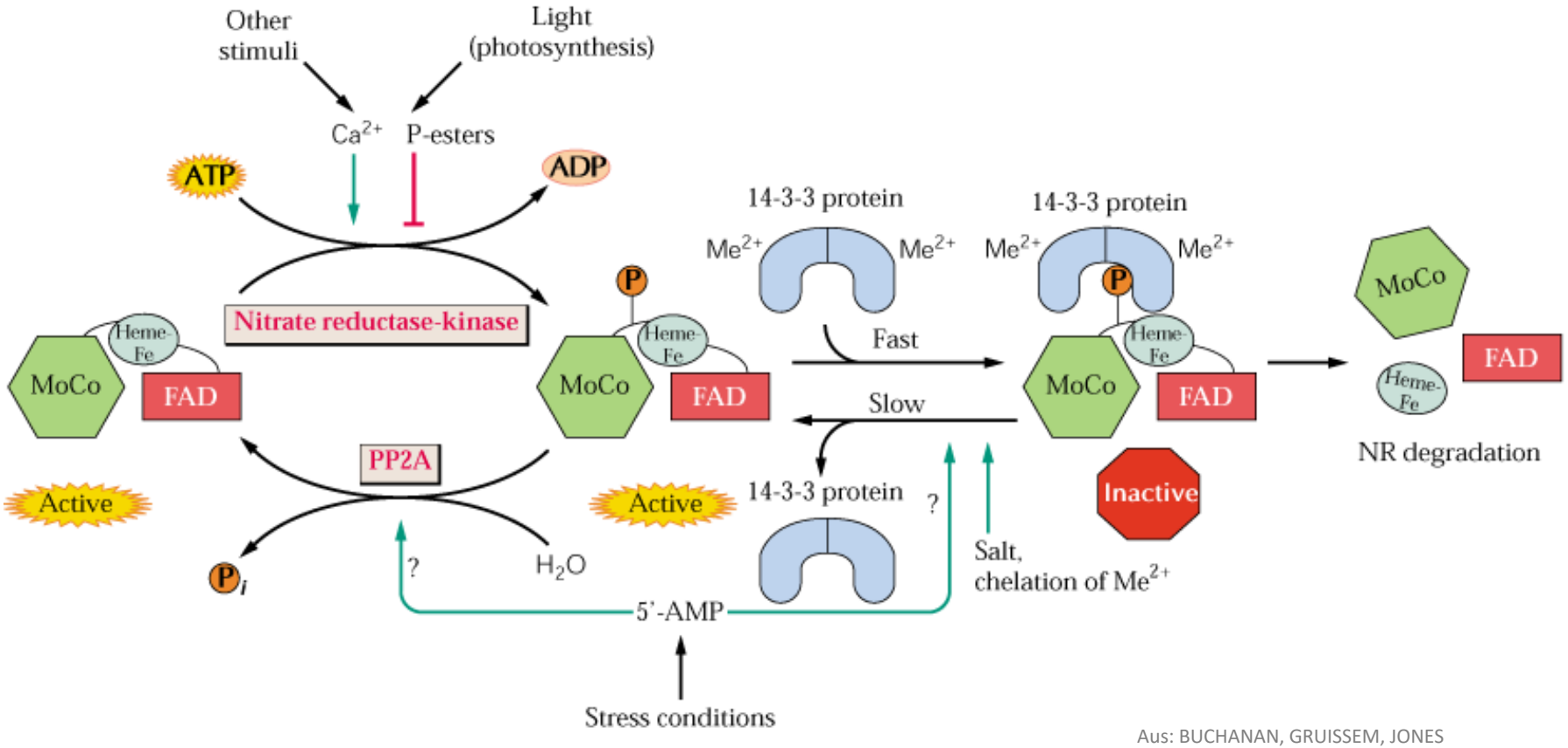
- 3 Cofaktoren pro Nitratreduktase Untereinheit:
  1 FAD, 1 Eisen-Häm, 1 Molybdän-Cofaktor (MoCo)

➔ bilden eine intramolekulare e^--Transportkette

Regulation der Nitratreduktase

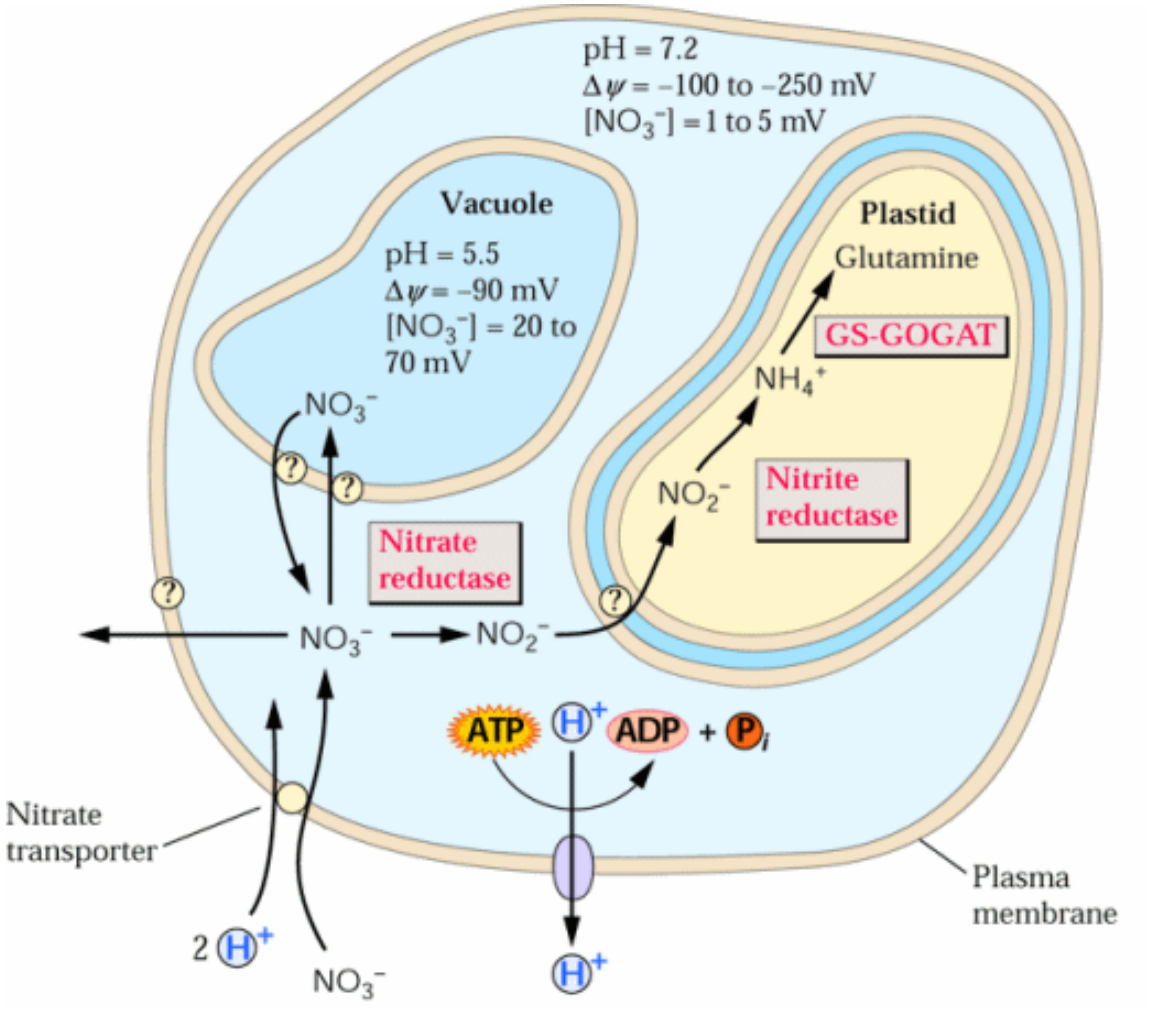


Regulation der Nitratreduktase



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

Weitere Schritte der Nitratassimilation



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

Reduktion von Nitrit zu Ammonium

Die NO_2^- -Reduktase

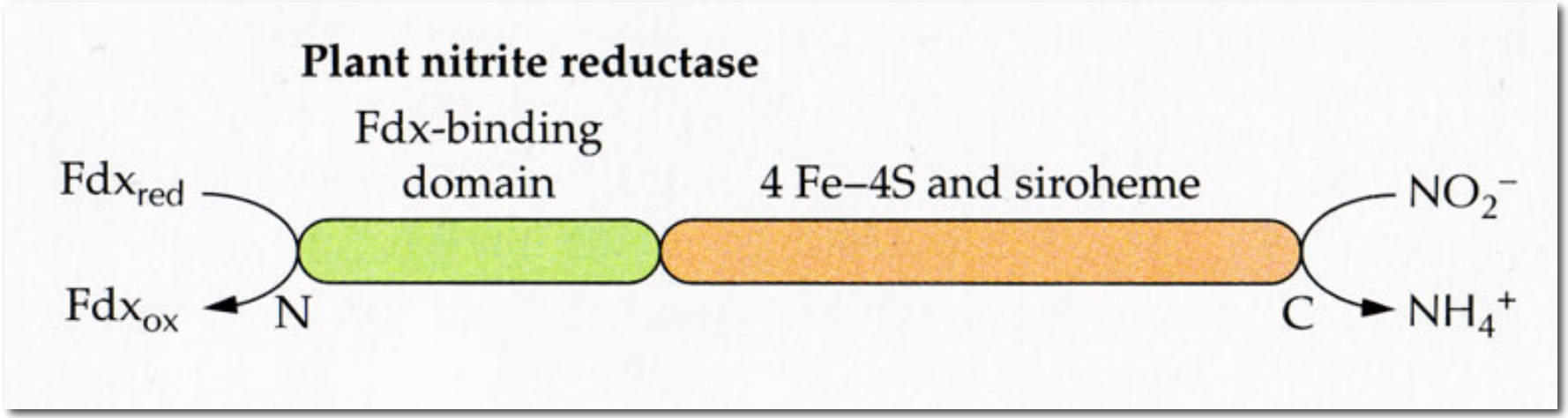
Nitrite reductase

$$NO_2^- + 6\ Fdx_{red} + 8\ H^+ \longrightarrow NH_4^+ + 6\ Fdx_{ox} + 2\ H_2O$$

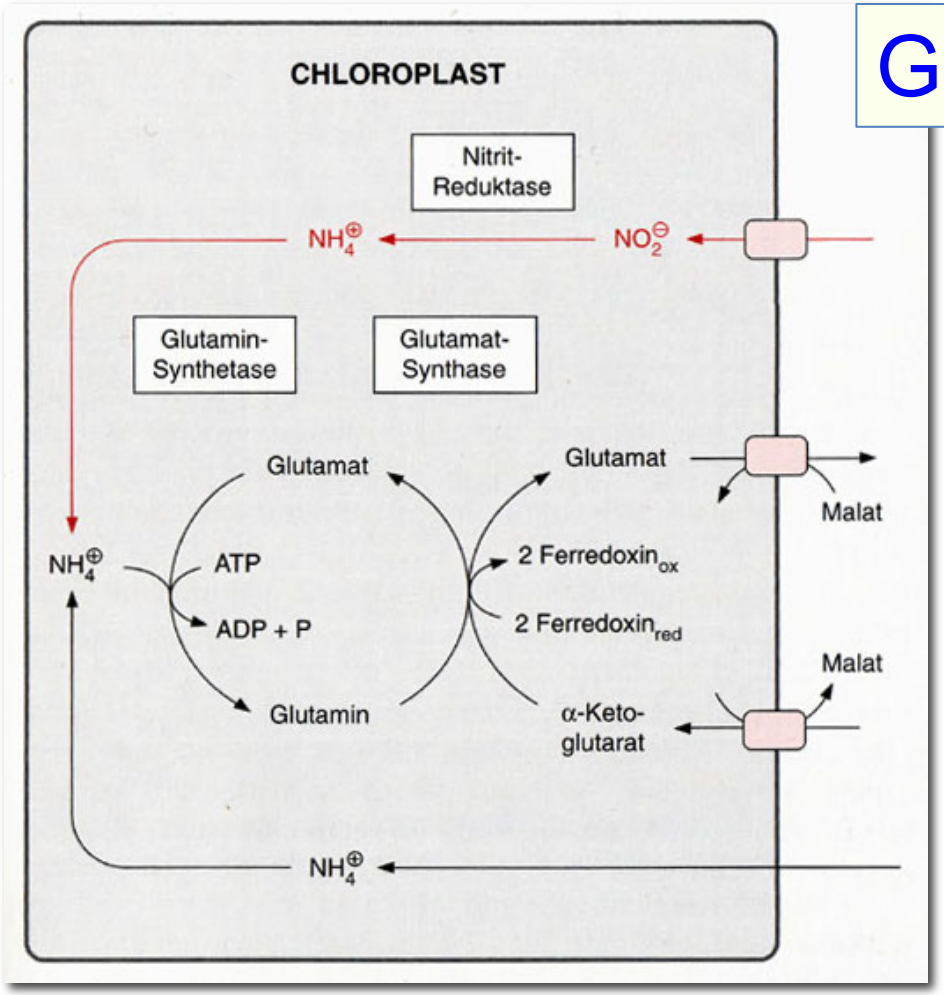
Ferredoxin-NADP$^+$ reductase

$$NADPH + 2\ Fdx_{ox}\ (Fe^{3+}) \longrightarrow NADP^+ + 2\ Fdx_{red}\ (Fe^{2+}) + H^+$$

- Die Nitritreduktase ist kern-kodiert
- Aktiv als Monomer
- Übertragung von 6 e^-
- 6 e^- kommen von Ferredoxin

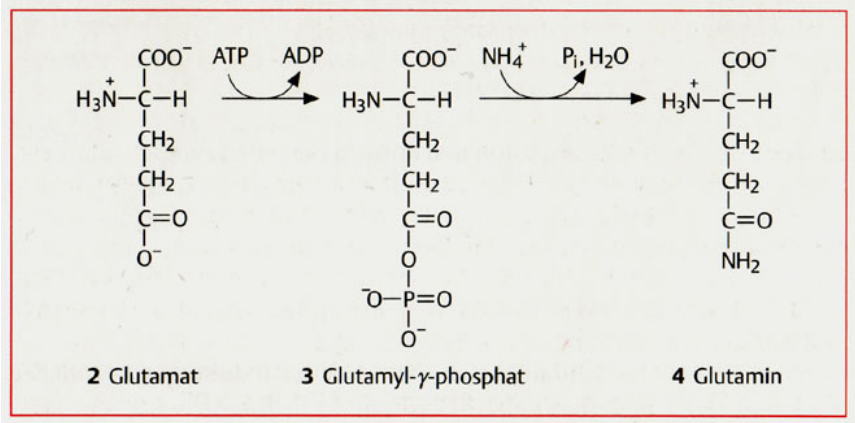


Einbau von NH_4^+ in Aminosäuren



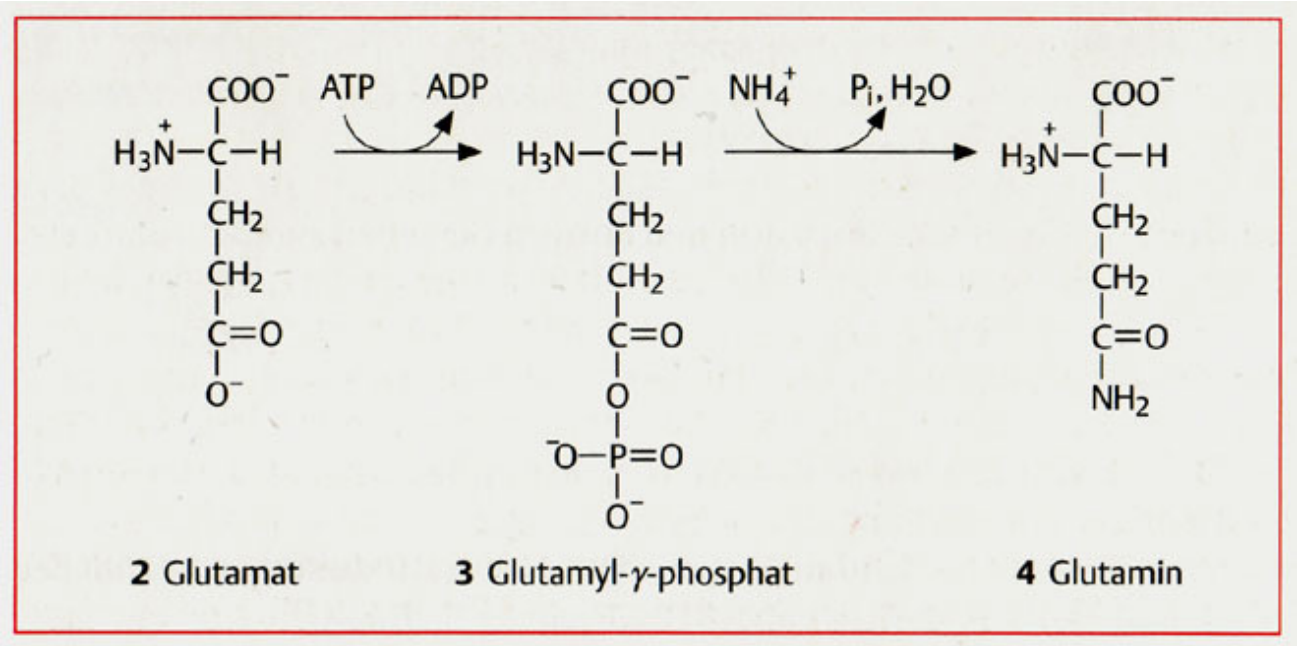
Glutaminsynthetase (GS)

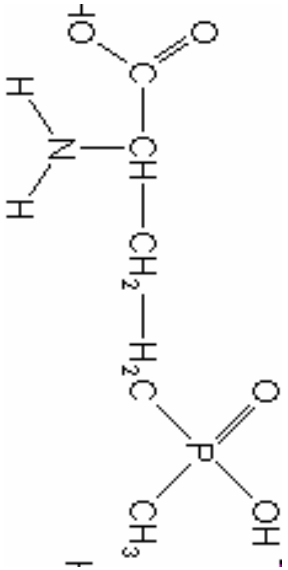
Freies NH_4^+ wird an die aktivierte Seitenkette der Aminosäure Glutamat gekoppelt und von dort auf die Keto-Gruppe von a-Ketoglutarat übertragen !!!



Die Wirkung des Totalherbizids BASTA

BASTA





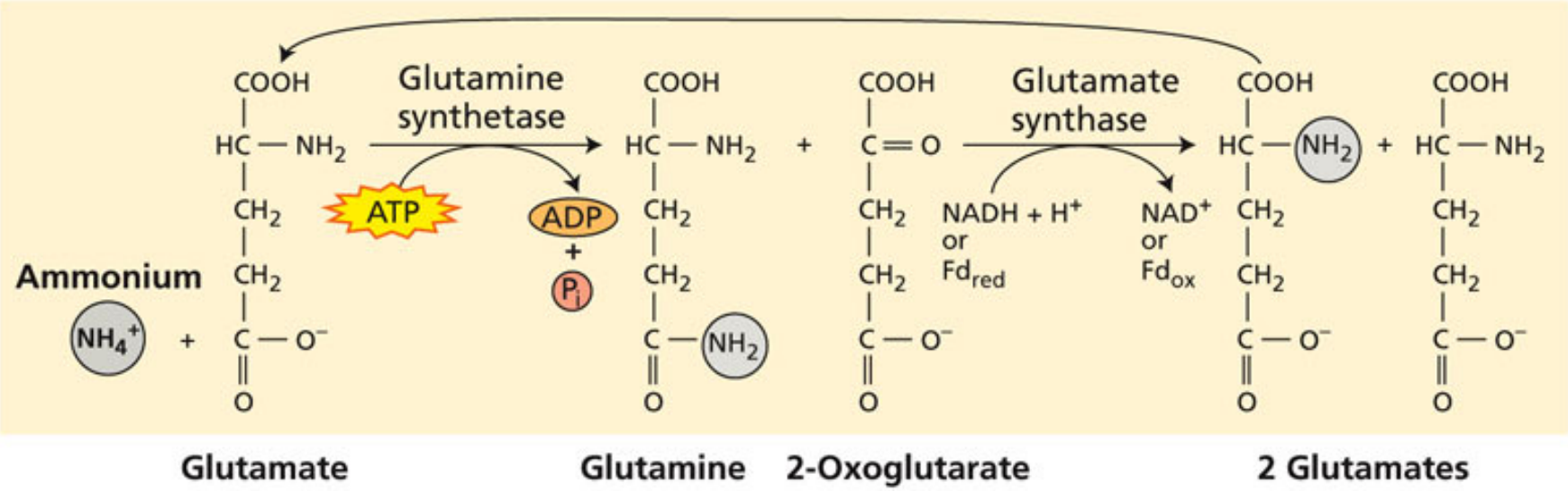
➔ Komplette Hemmung der Proteinbiosynthese

Der GS-GOGAT Zyklus

Glutamatsynthase

Glutamin-Oxoglutarat-Amino-Transferase

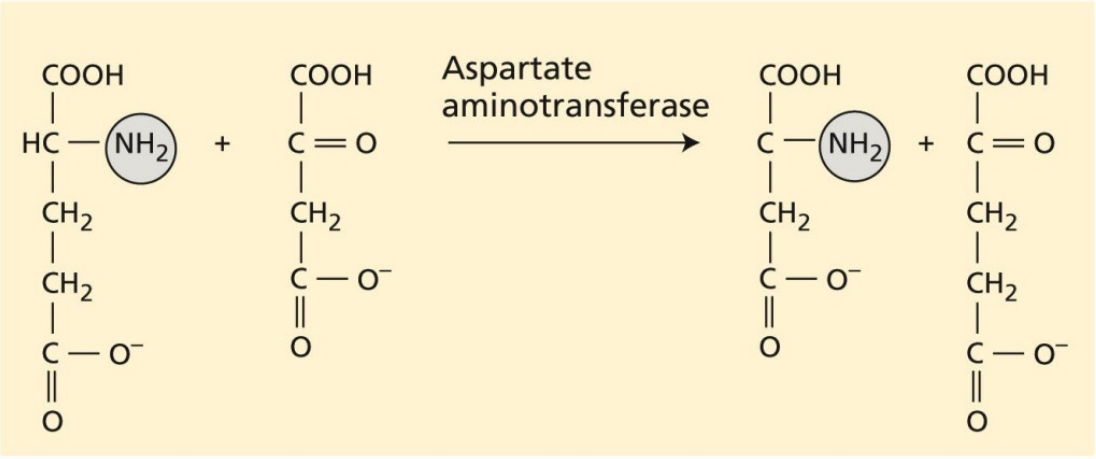
GOGAT

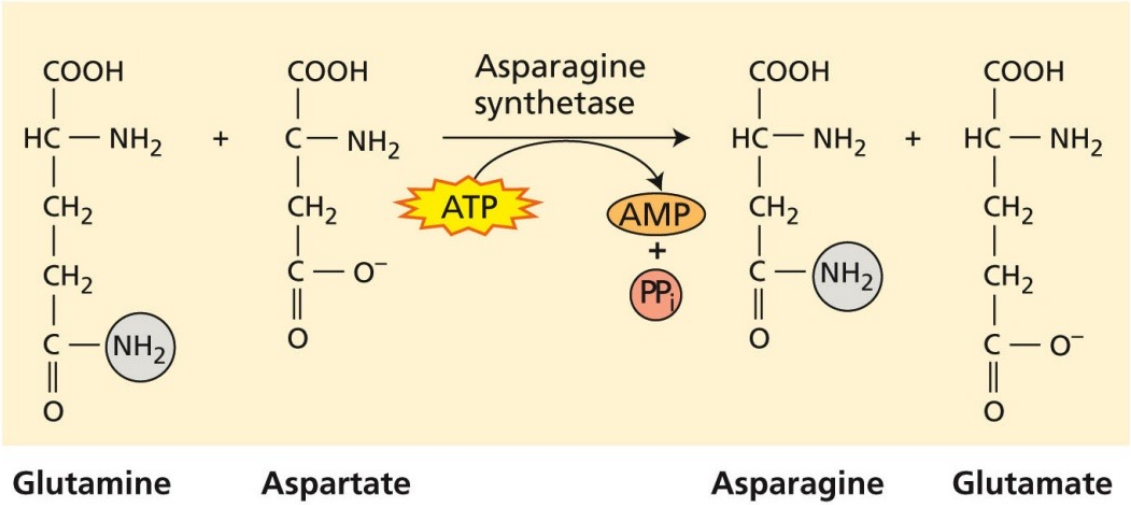


Zwei Klassen von GOGAT:

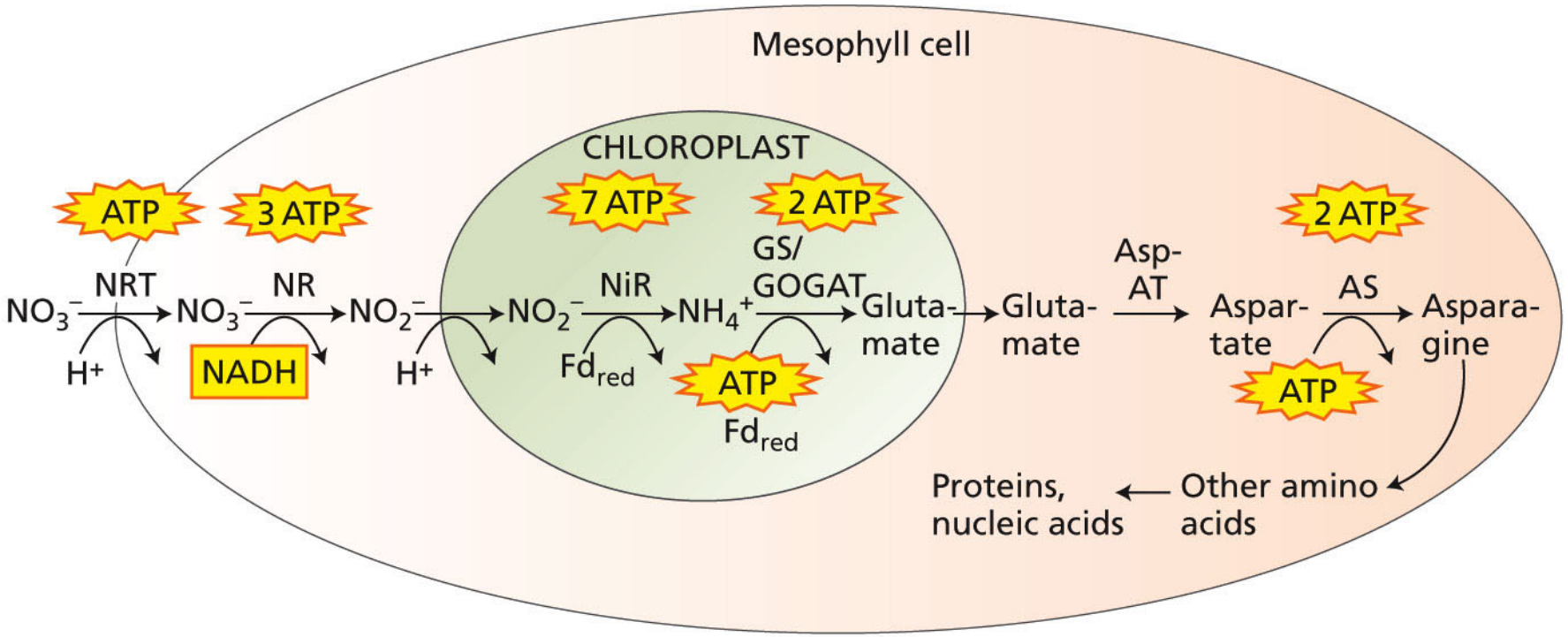
- NADH abhängig (in PS inaktiven Geweben)
- Fd abhängig (Chloroplasten)

Aspartat und Asparagin





Stickstoffassimilation ist teuer

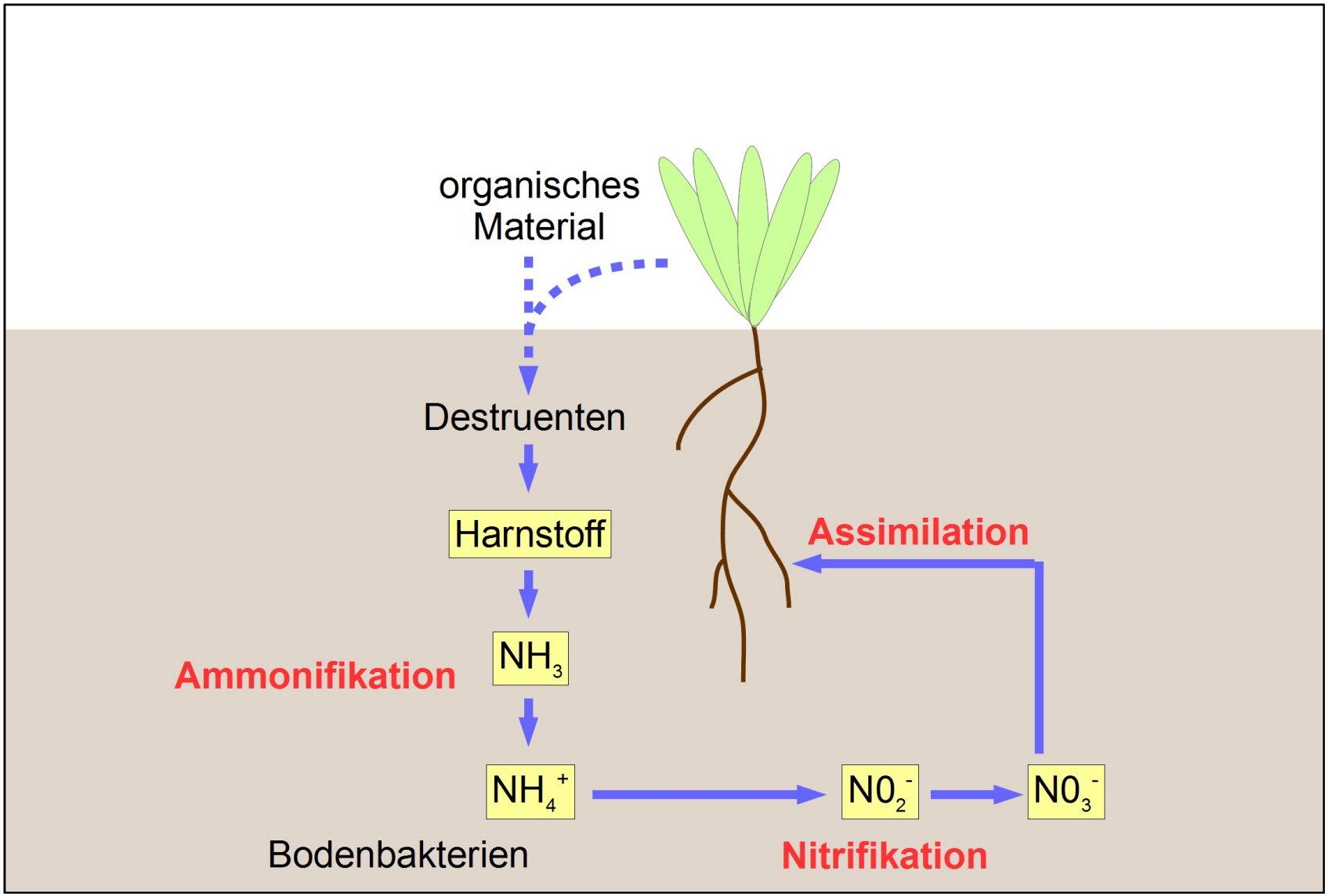


Die Pflanze verwendet ca. 25% ihrer Energie für die N-Assimilation!

Stickstoff

2. Ammonifikation und Nitrifikation

Ammonifikation und Nitrifikation



Ammonifikation

Am Beispiel des Harnstoffabbaus durch das Enzym Urease der Harnstoffbakterien

$$H_2N\text{-}CO\text{-}NH_2 + H_2O \rightarrow 2\,NH_3 + CO_2$$

Nitrifikation

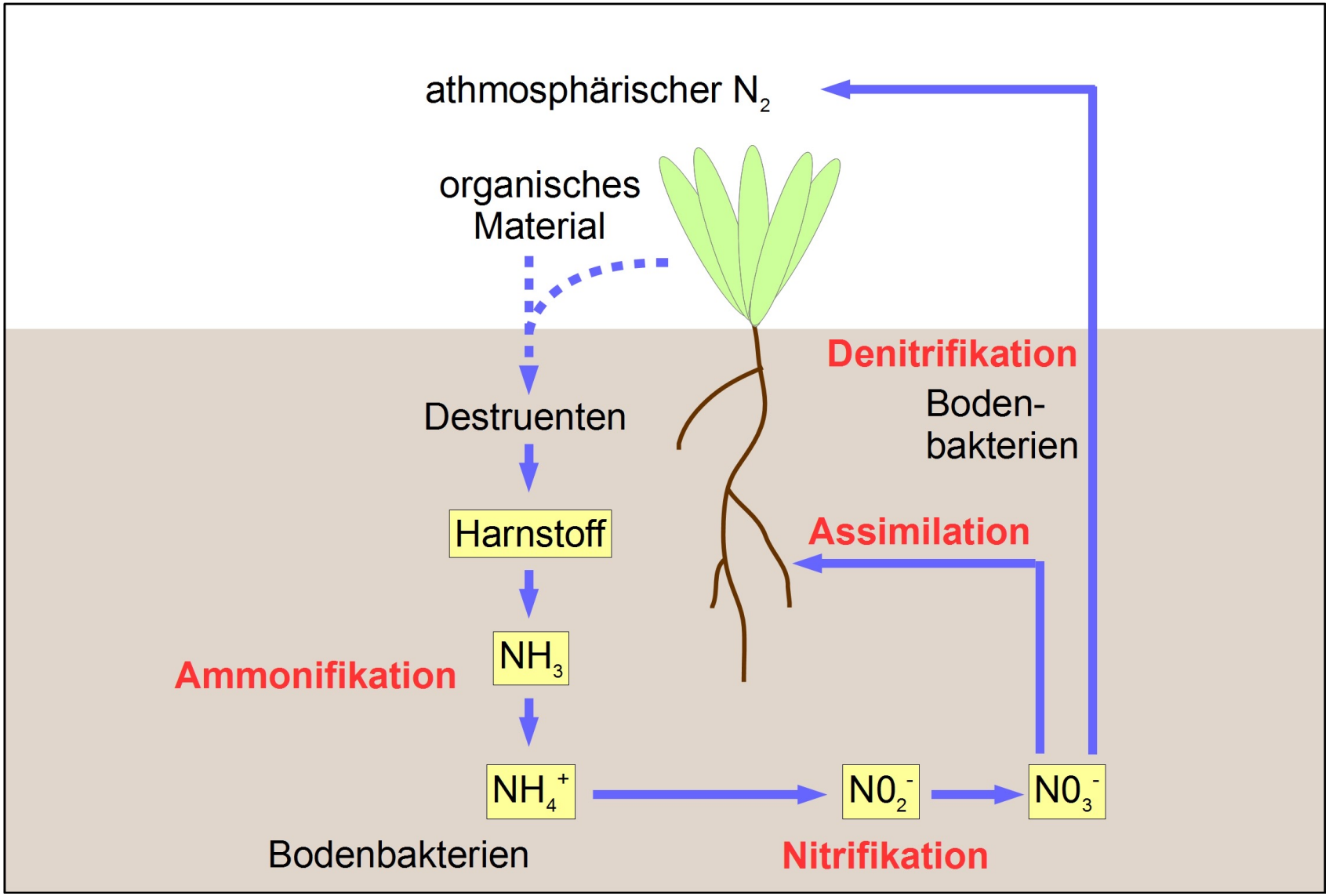
Ammoniakoxidation:

$2\ NH_3 + 3\ O_2 \rightarrow 2\ NO_2^- + 2H^+ + 2\ H_20$

Nitritoxidation:

$2\ NO_2^- + O_2 \rightarrow 2\ NO_3^-$

Denitrifikation



Denitrifikation

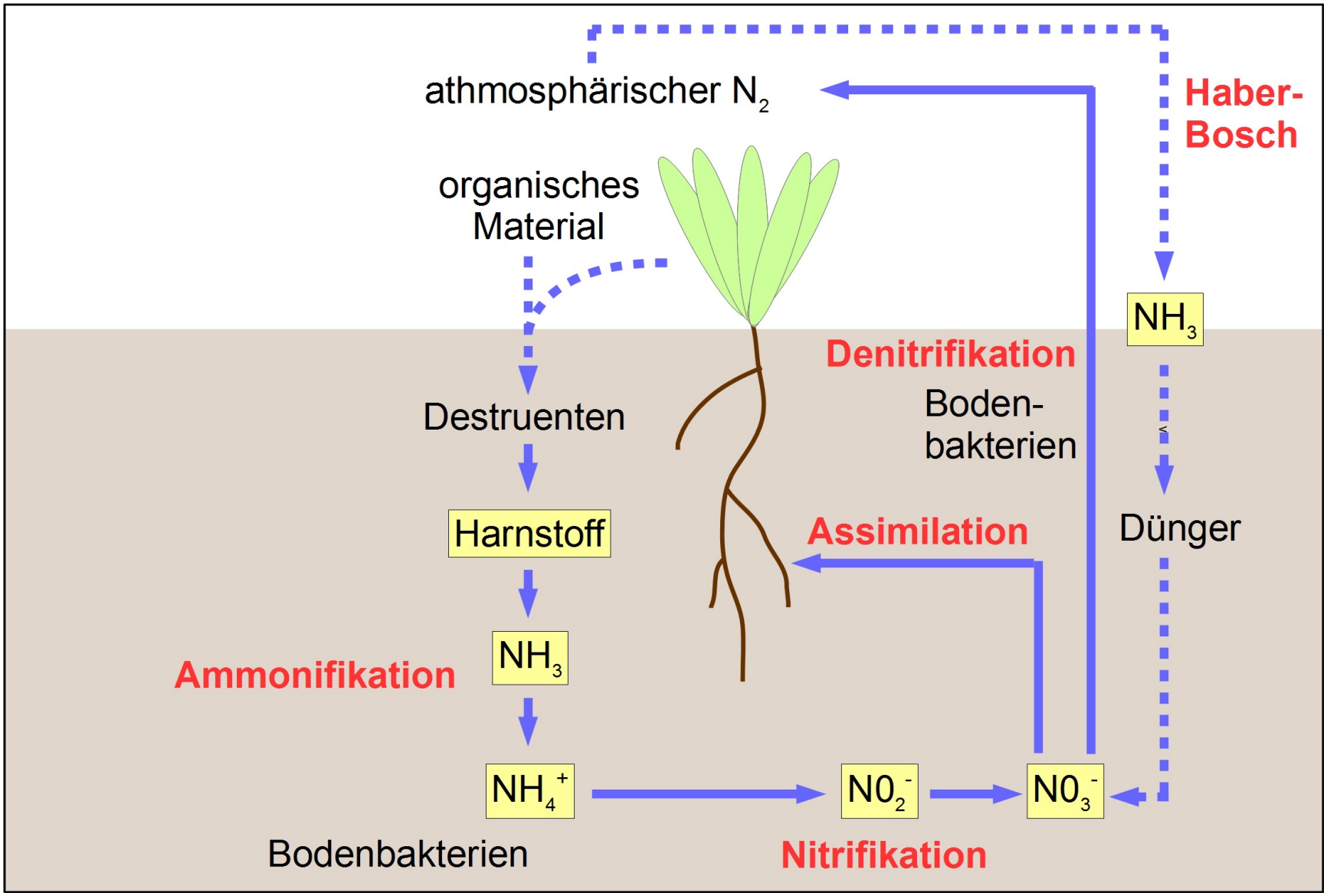
Nitrat als Oxidationsmittel unter anaeroben Bedingungen (Nitratatmung von Bakterien, z.B. *Pseudomonas*)

$$2\ NO_3^- + 12\ H^+ + 10\ e^- \rightarrow N_2 + 6\ H_2O$$

Stickstoff

3. N_2-Fixierung

Düngung


athmosphärischer N_2
Haber-Bosch
organisches Material
NH_3
Denitrifikation
Boden-bakterien
Destruenten
Harnstoff
Assimilation
Dünger
NH_3
Ammonifikation
NH_4^+
NO_2^-
NO_3^-
Bodenbakterien
Nitrifikation

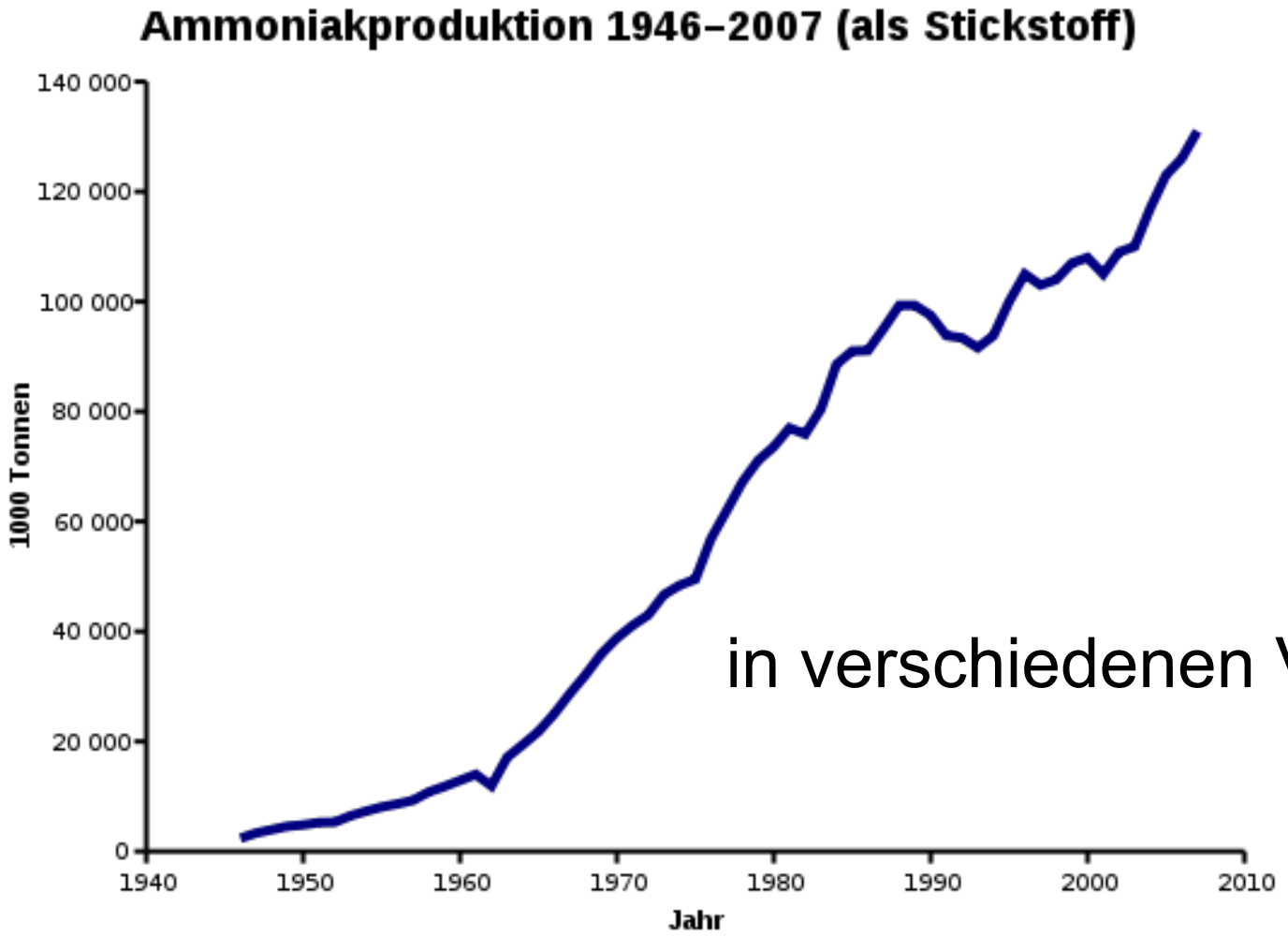
Umwandlung von N_2 in NH_3

- N_2 ist extrem stabil

<u>Chemische Umwandlung:</u> Haber / Bosch - Verfahren

150 - 400 atm / 400 - 600° C !!!!!!

Haber-Bosch-Verfahren



in verschiedenen Verfahren

~1.5% des weltweiten Energieverbrauchs

Haber-Bosch-Verfahren

3 Nobelpreise für Chemie:

Fritz Haber	1918
Carl Bosch	1931
Gerhard Ertl	2007

Umwandlung von N_2 in NH_3

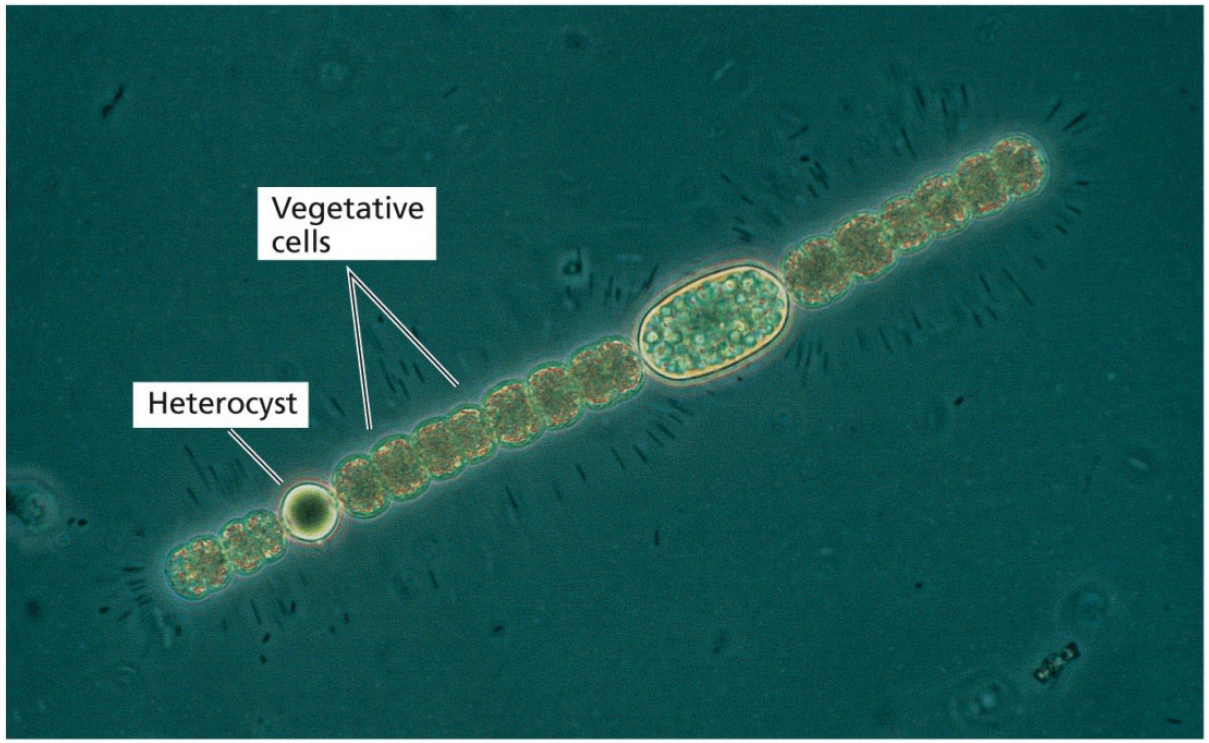
- N_2 ist extrem stabil

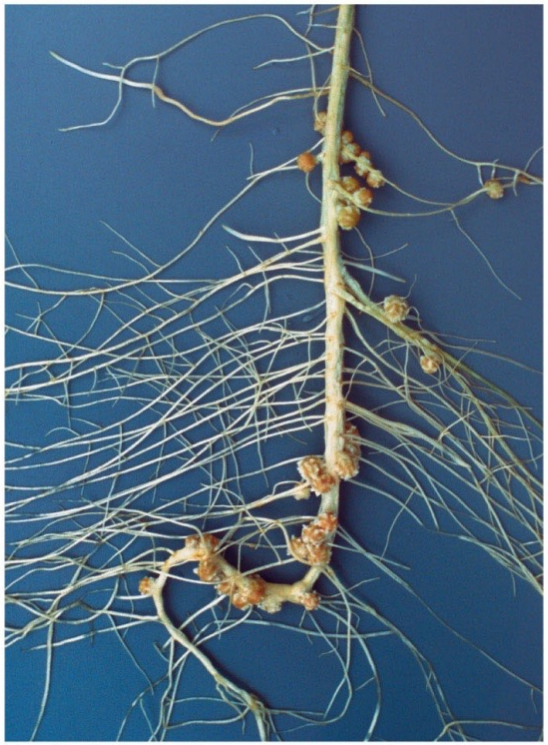
Biologisch: **Nitrogenase + Enzyme, die Reduktionsäquivalente anliefern**

$$N_2 + 16\ ATP + 8e^- + 8H^+ \longrightarrow 2NH_3 + H_2 + 16\ ADP + 16P_i$$

Dies ist die energieaufwändigste Reaktion der Biochemie
Eigentlich exergon! Extrem hohe Aktivierungsenergie!

N-Fixierung nur durch Prokaryoten

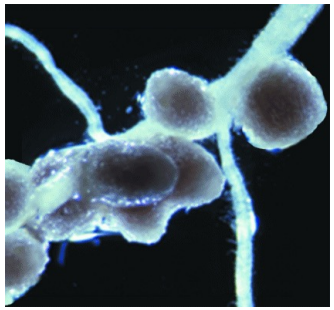


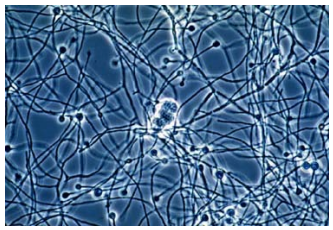


Symbiontische N-Fixierung

16.74 Ein Feld mit stickstoffarmem Boden, auf dem Soja ohne Knöllchen (links) und mit Knöllchen (rechts) wachse

N-Fixierung - Symbiosen





Bakterien	**Pflanzenarten**
Gram-negative Bakterien (z.B. *Rhizobium*)	*Fabaceae*
Gram-positive Actinomyceten (z.B. *Frankia*)	z.B. *Alnus*
Cyanobakterien (z.B. *Anabena*, *Nostoc*)	versch. Farnarten (z.B. *Azolla*)

Symbiontische N-Fixierung

Die symbiontische N-Fixierung erfolgt nur bei ganz bestimmten Pflanzen und Bakterien als Folge einer perfekt entwickelten Interaktion:

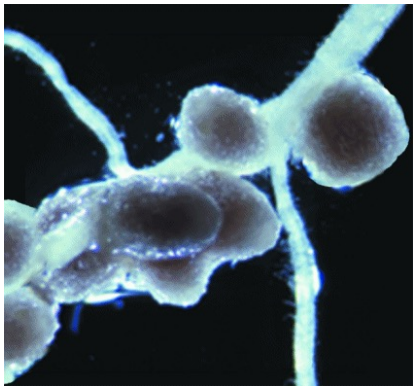


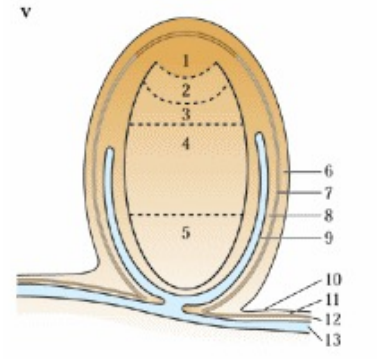
TABLE 12.3
Associations between host plants and rhizobia

Plant host	Rhizobial symbiont
Parasponia (a nonlegume, formerly called *Trema*)	*Bradyrhizobium* spp.
Soybean (*Glycine max*)	*Bradyrhizobium japonicum* (slow-growing type); *Sinorhizobium fredii* (fast-growing type)
Alfalfa (*Medicago sativa*)	*Sinorhizobium meliloti*
Sesbania (aquatic)	*Azorhizobium* (forms both root and stem nodules; the stems have adventitious roots)
Bean (*Phaseolus*)	*Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*; *Rhizobium tropicii*; *Rhizobium etli*
Clover (*Trifolium*)	*Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*
Pea (*Pisum sativum*)	*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*
Aeschenomene (aquatic)	*Photorhizobium* (photosynthetically active rhizobia that form stem nodules, probably associated with adventitious roots)

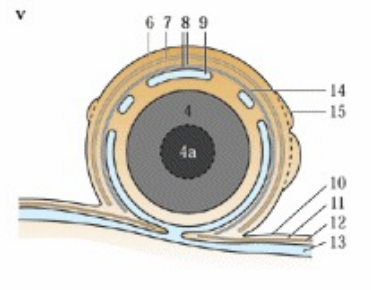
PLANT PHYSIOLOGY, Fourth Edition, Table 12.3 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

Knöllchentypen

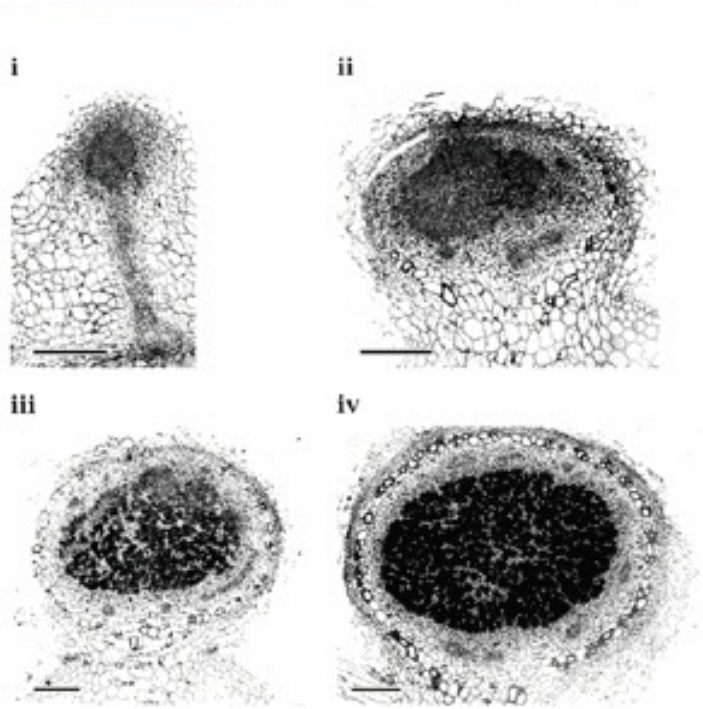
- **Undeterminiert**
  (zylindrisch mit Meristem)



- **Determiniert**
  (sphärisch ohne Meristem)

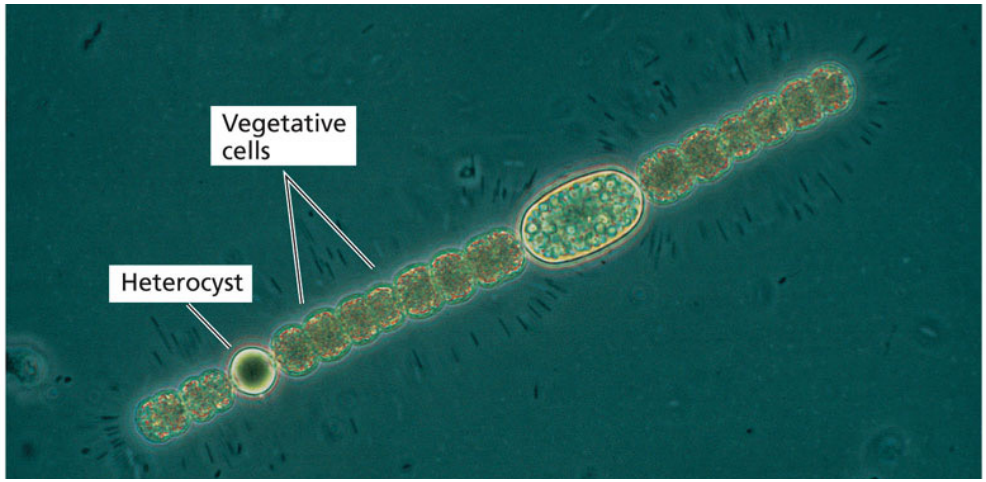


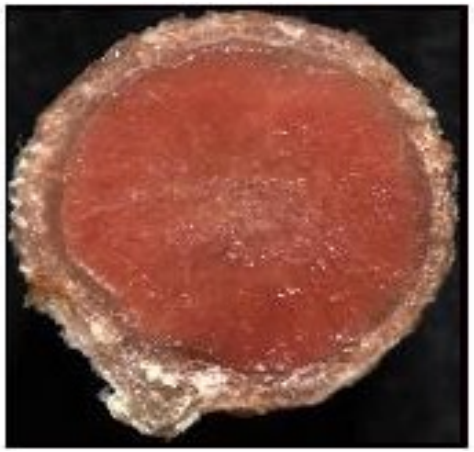
Knöllchen = ‚nodule‘

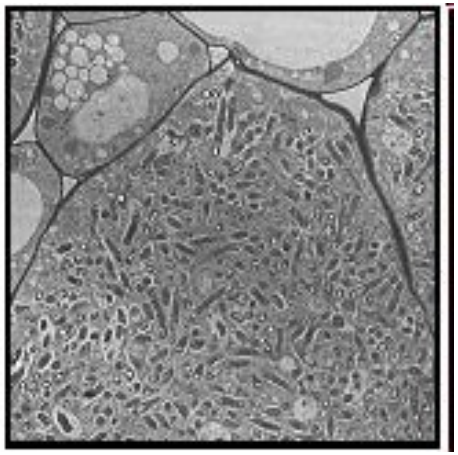


N-Fixierung ist sensitiv gegenüber O_2

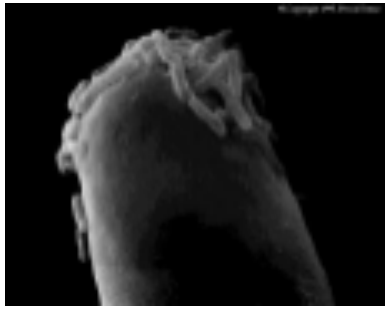
- Trennung von Fixierung und Photosynthese

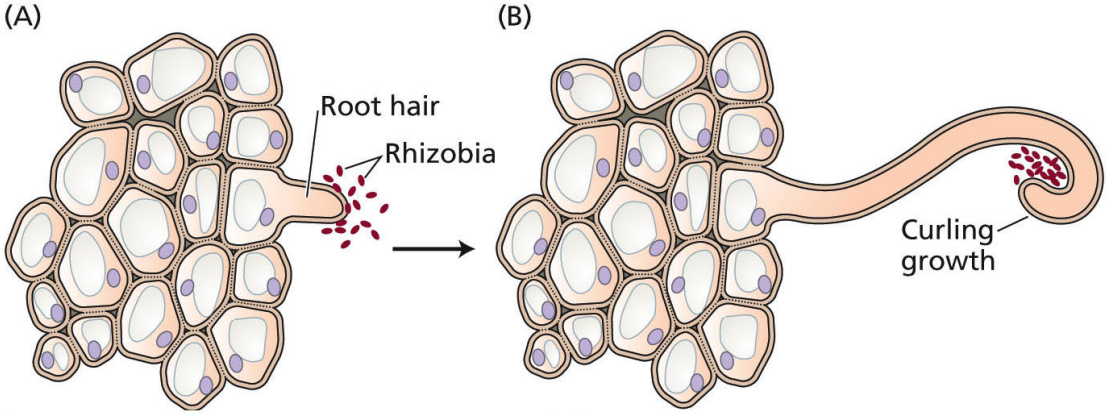


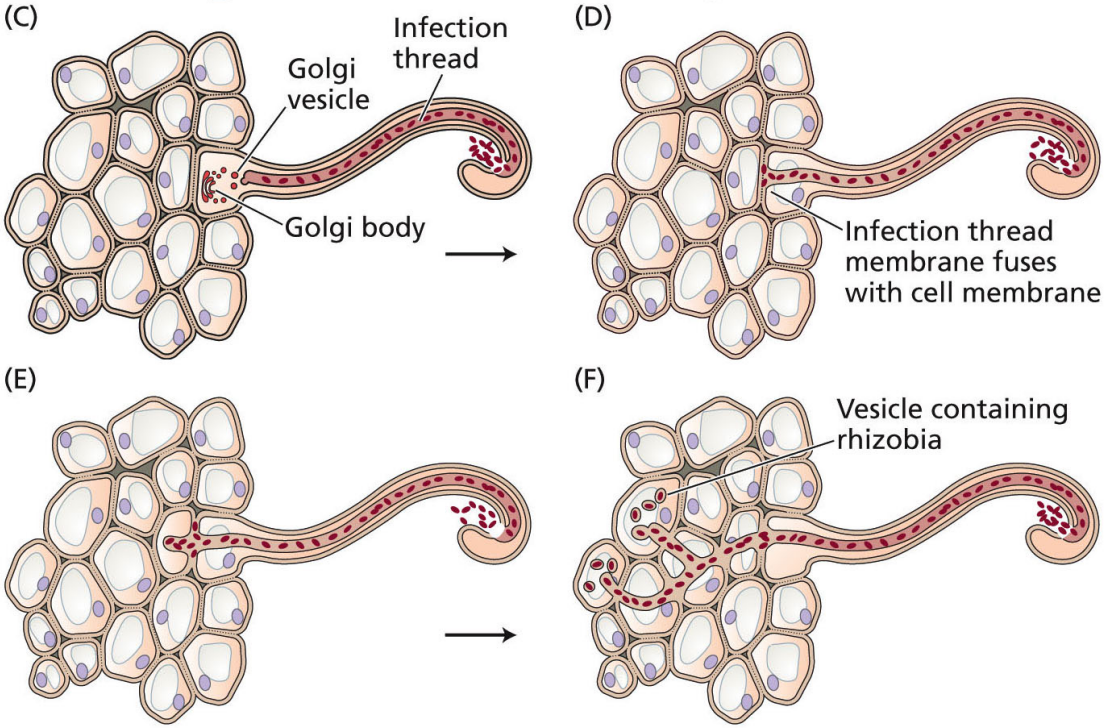




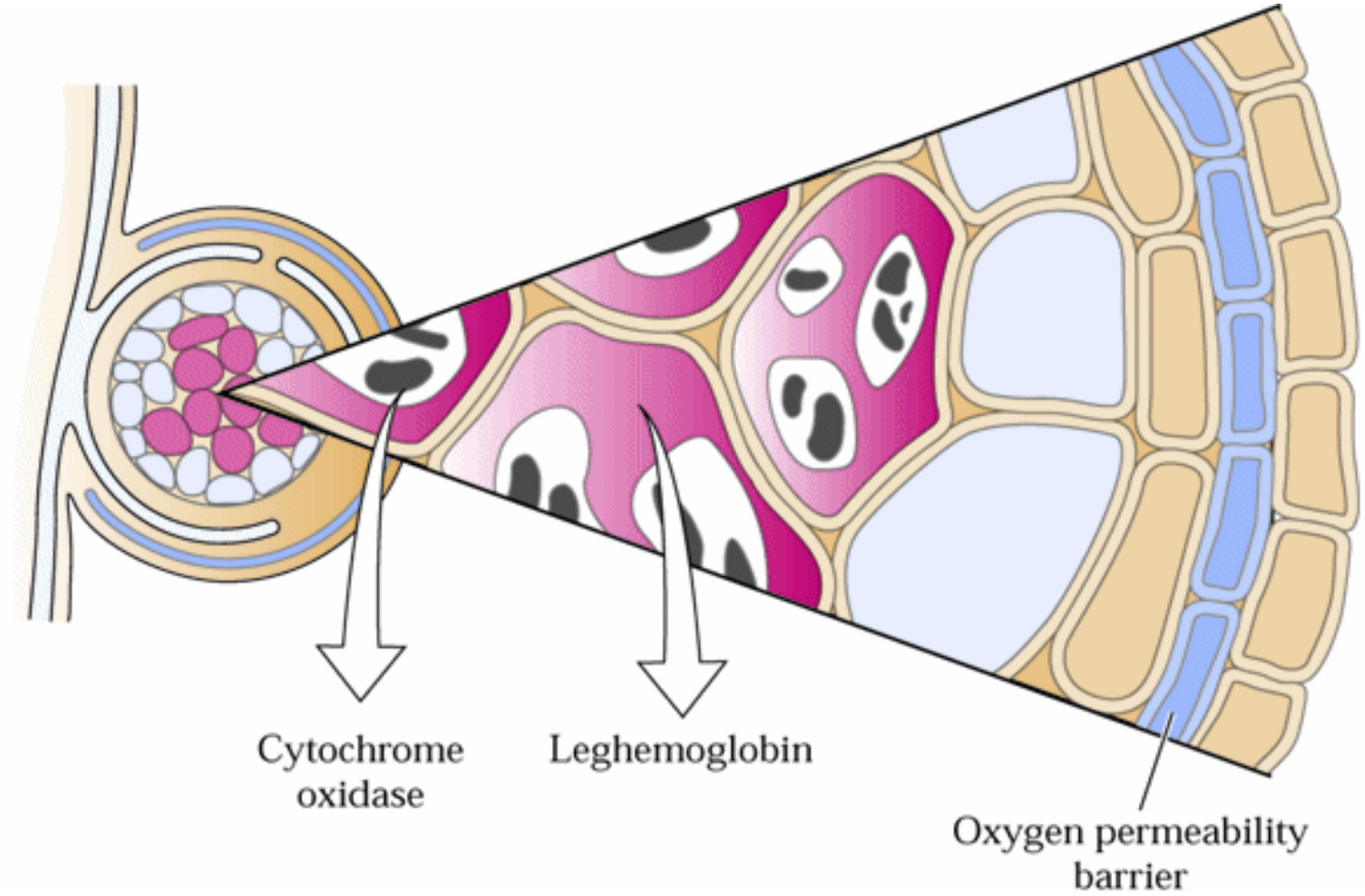
Ausbildung des Infektionsschlauchs





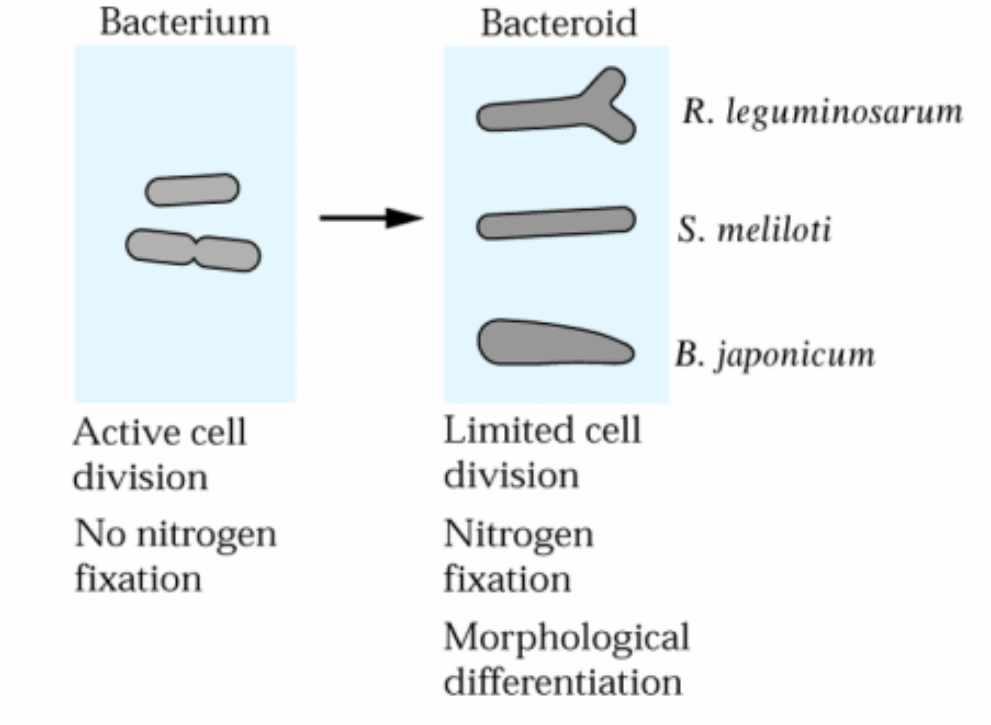


Schaffung von „Niedrig-O_2“ durch...



Die Bildung von Bakteroiden

- Innerhalb der Peribakteroidmembran bildet sich aus dem Bakterium ein Bakteroid mit verändertem Aussehen und neuartigen Eigenschaften



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

Zeitlicher Verlauf einer Symbiose

Identifizierung

- **Pflanze scheidet Erkennungssubstanzen aus (Inducer: z.B. Flavonoide oder Nicht-Flavonoide)**
- **Bakterien scheiden Substanzen aus, die die genetische Steuerung der Pflanze modulieren (Nod-Faktoren)**

Schaffung neuer Strukturen

- **Pflanze bildet Infektionsschlauch aus**
- **Bakterien wandern ein und teilen sich im Infektionsschlauch**
- **Pflanze bildet Knöllchenstrukturen aus**
- **Pflanze und Bakterien tragen zur Matrix bei, zum Infektionsschlauch, der freigesetzte Bakterien umgibt**
- **Bakterium wandelt sich zum Bakteroid**

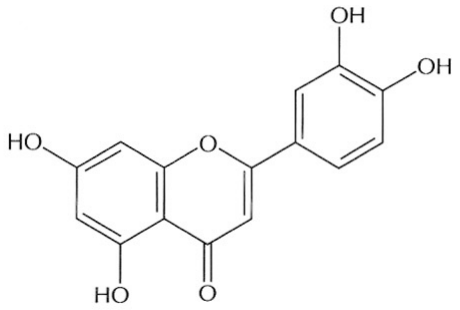
Symbiose

- **Pflanze schafft Voraussetzungen für N_2-Fixierung**
- **Bakteroid beginnt mit N_2-Fixierung**
- **Pflanze liefert C-Gerüste, Bakteroid liefert N-Verbindungen**

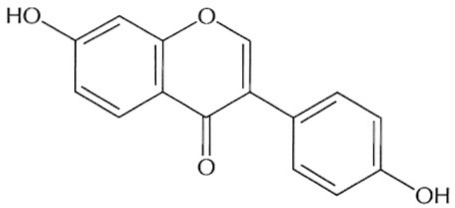
Die chemische Interaktion

- „Inducer“ der Pflanzen sind z.B.:

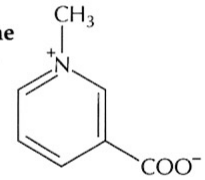
Luteolin,
a flavone inducer from
Medicago spp., active
on *S. meliloti*



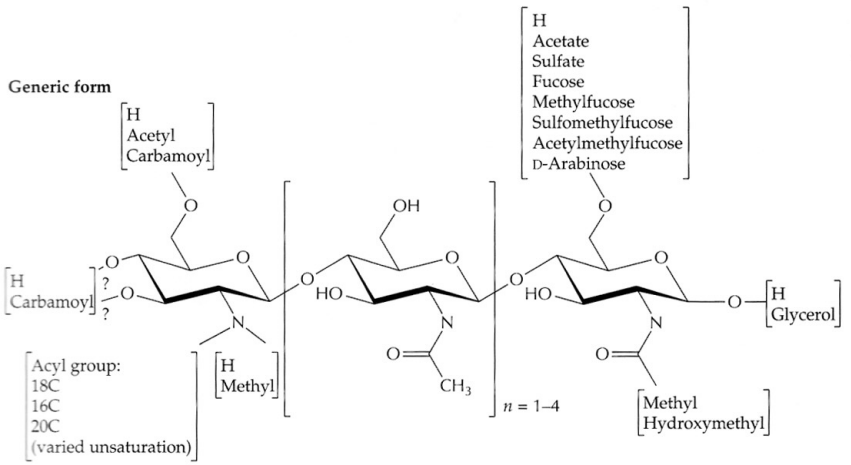
Daidzein,
an isoflavone
active on
B. japonicum

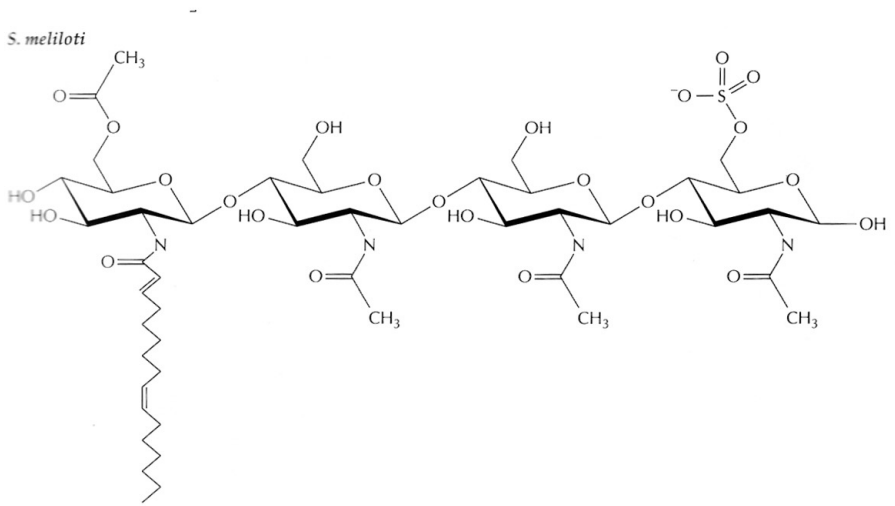


Trigonelline
(a betaine)



- „Nod-Faktoren“ der Bakterien sind z.B.:





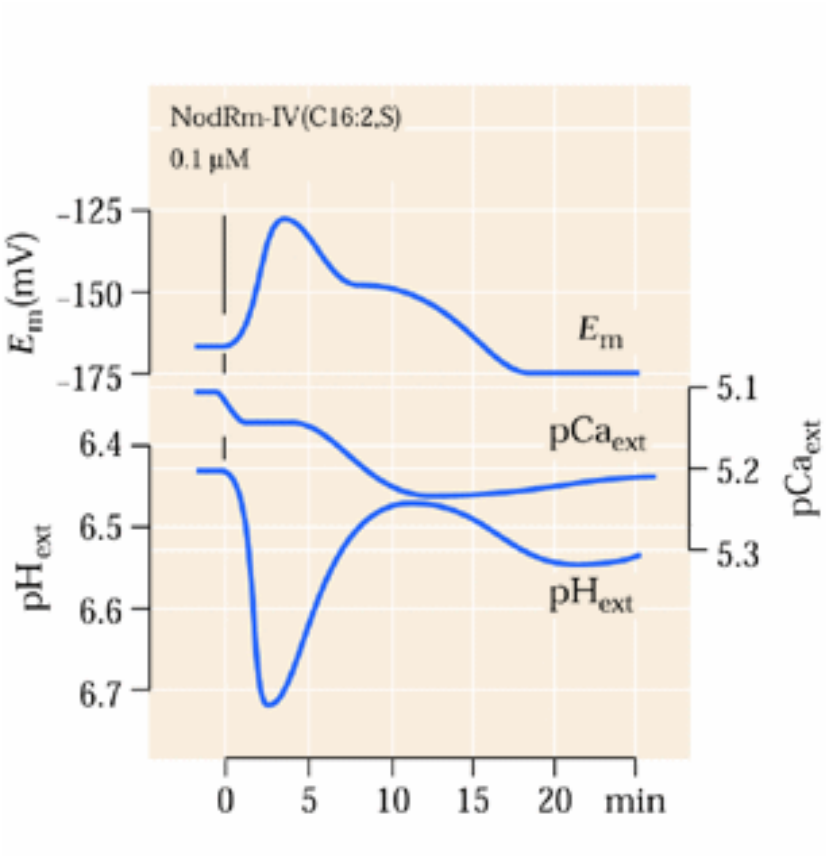
Die genetische Interaktion

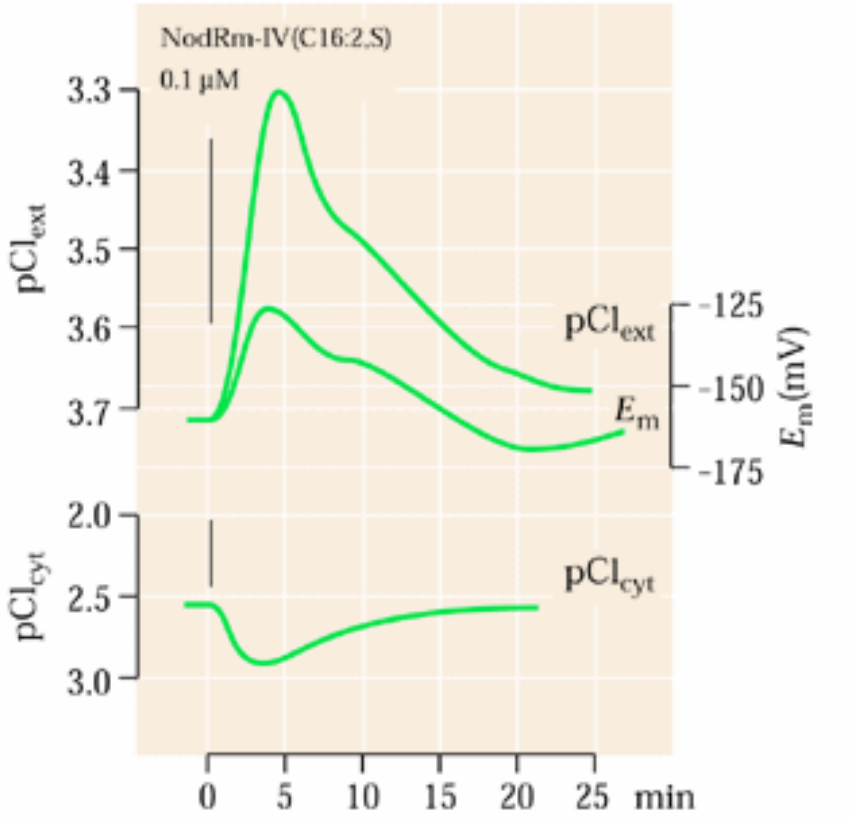
- Die Pflanzen schalten die Nodulin-(*Nod*-)Gene an:
  - Globinanteil des Leghämoglobins
  - Proteine zur Assimilation von NH_4^+
  - Transportproteine

- Die Bakterien schalten die Nodulations-(*nod*-)Gene an.
  - *nodA*, *nodB* und *nodC* in allen Rhizobien zur Synthese eines Nod-Faktor Grundgerüsts
  - *nodD* ist konstitutiv exprimiert, NodD ist ein Transkriptionsfaktor
  - Alle anderen *nod*-Gene sind speziesabhängig.

Die Antwort der Pflanze

- Elektrische Antwort: Membranpotential, pH, Ca^{2+}, Cl^-

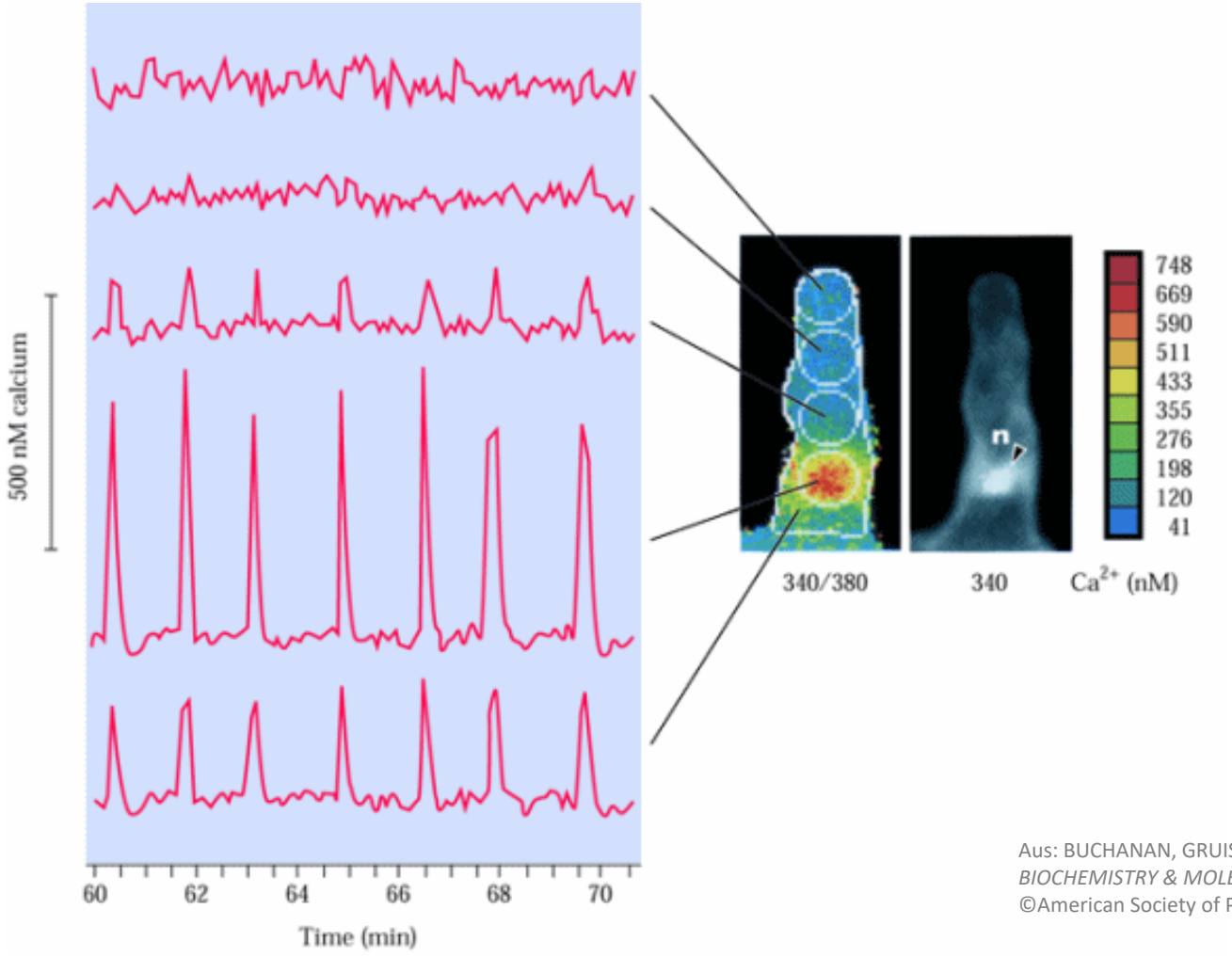




Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

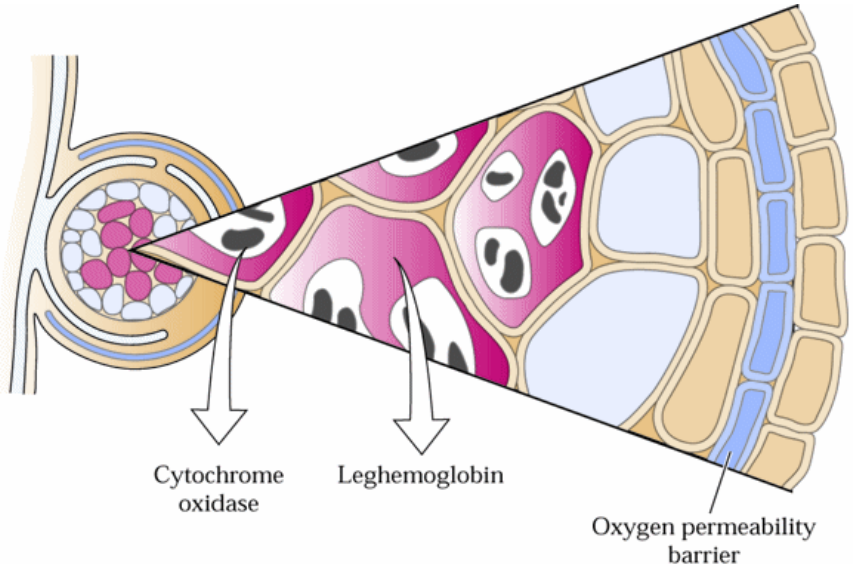
Die Antwort der Pflanze

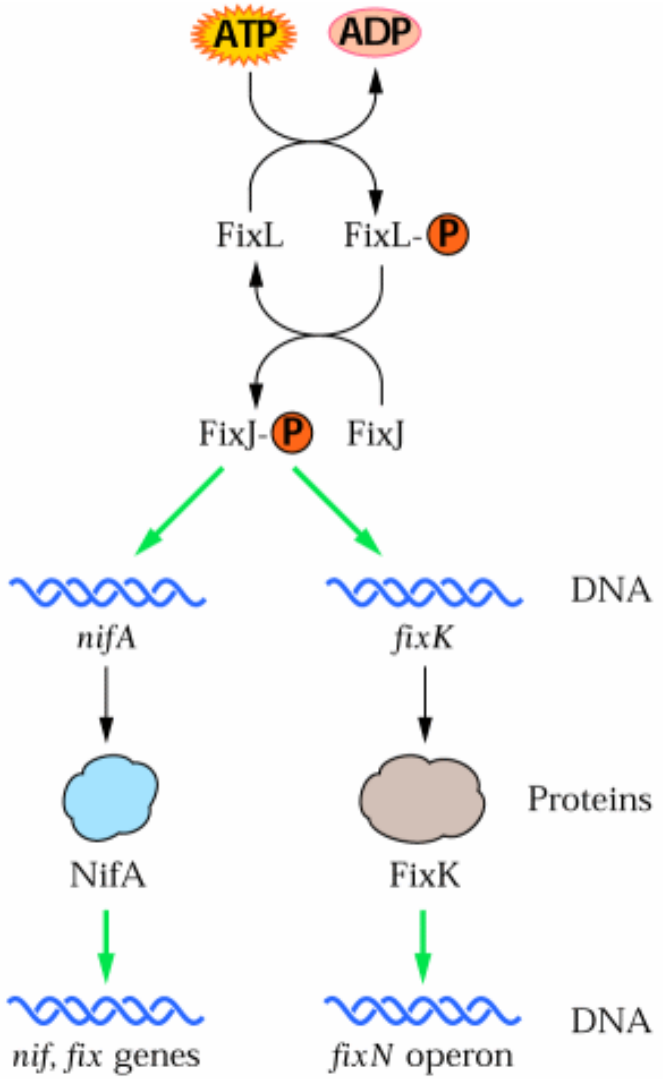
- Entstehung cytoplasmatischer Ca^{2+}-Signale



Aus: BUCHANAN, GRUISSEM, JONES
BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS
©American Society of Plant Biologists, 2006

Anschalten der N_2-Fixierung

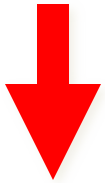




- Signalkaskade zur Expression der Gene, die zur N-Fixierung benötigt werden.

Enzymologie der N-Fixierung

- Die Nitrogenase besteht aus 2 Enzymen, die von 3 Genen kodiert werden.

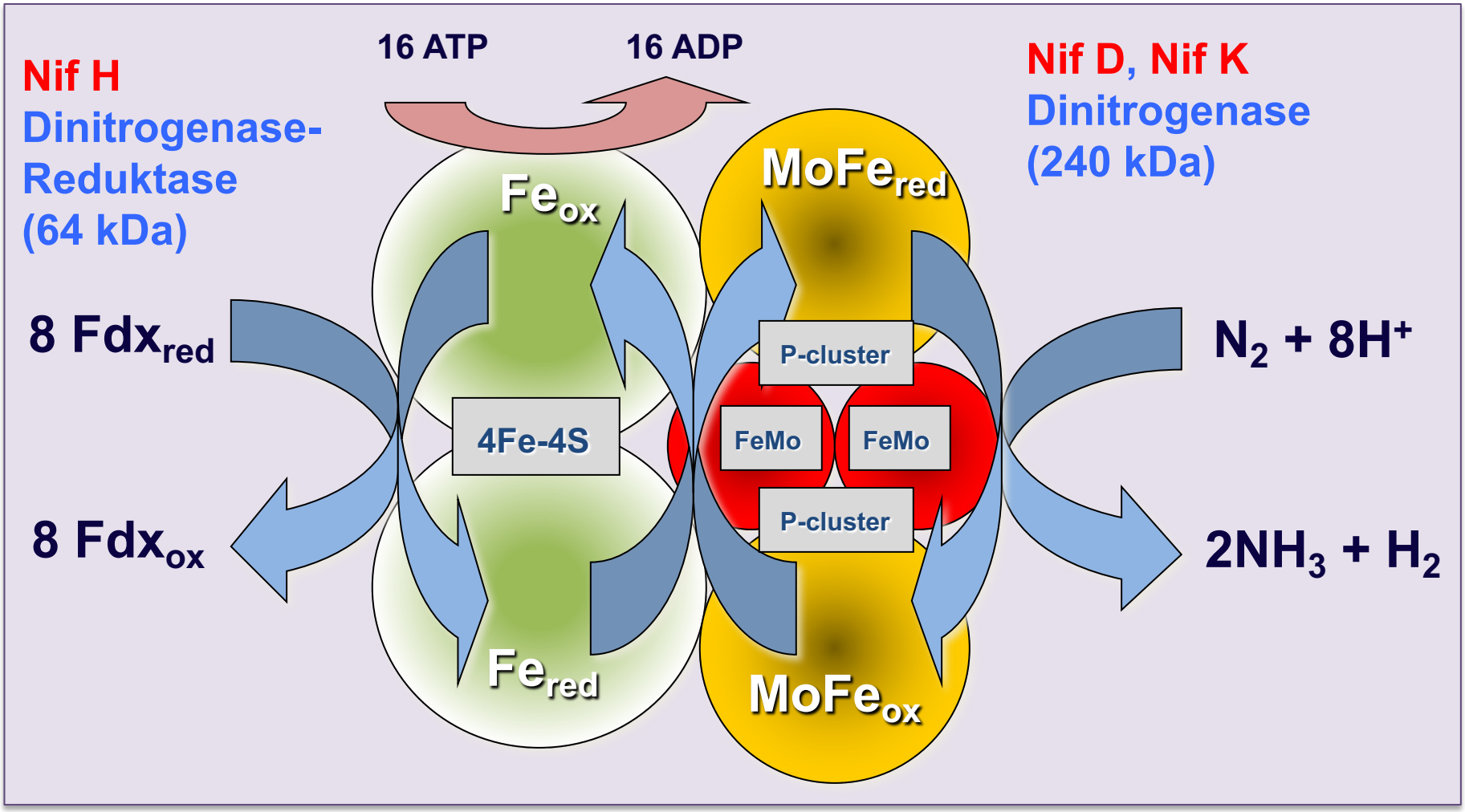


Nitrogenasekomplex

Dinitrogenase (Heterotetramer - Nif D, Nif K)

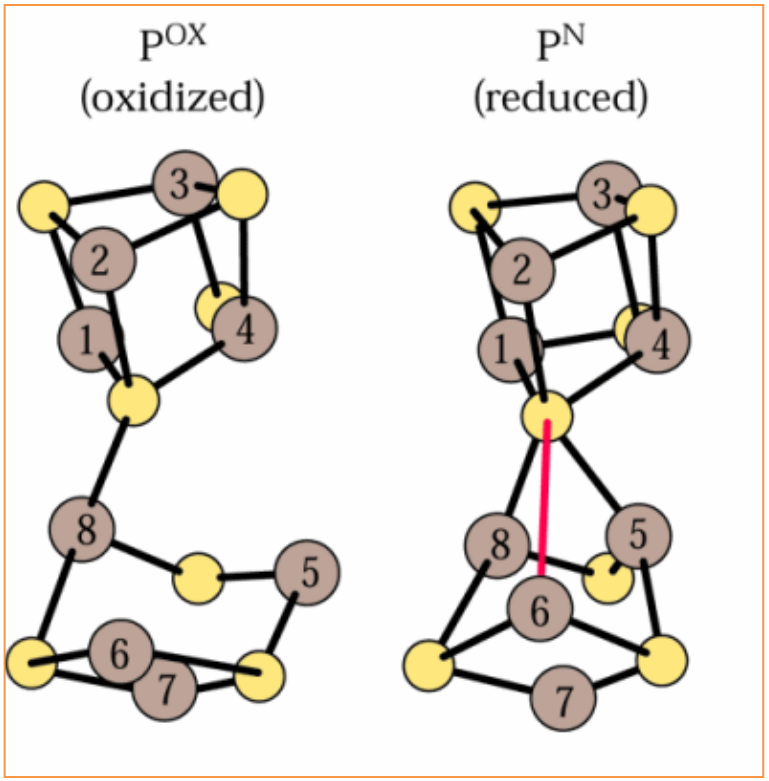
Dinitrogenase-Reduktase (Homodimer - Nif H)

Der Nitrogenase-Komplex



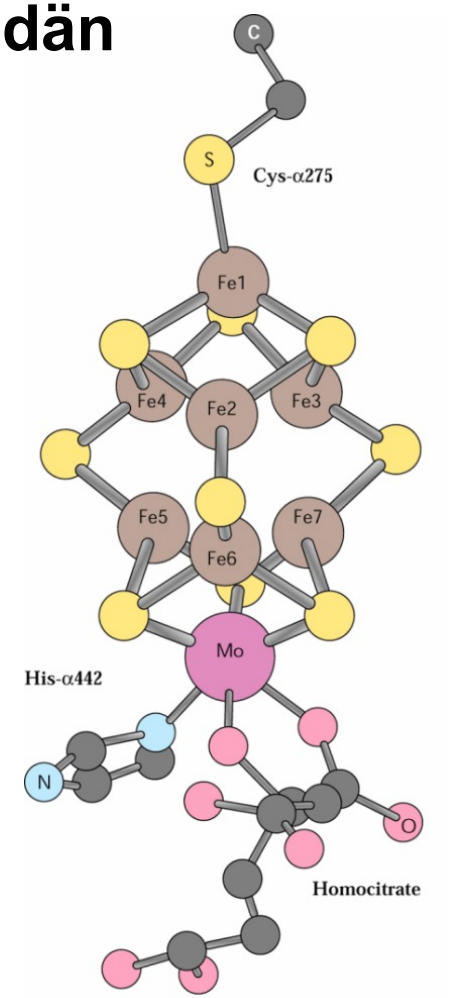
Die Cofaktoren der Dinitrogenase

- **P-Cluster**



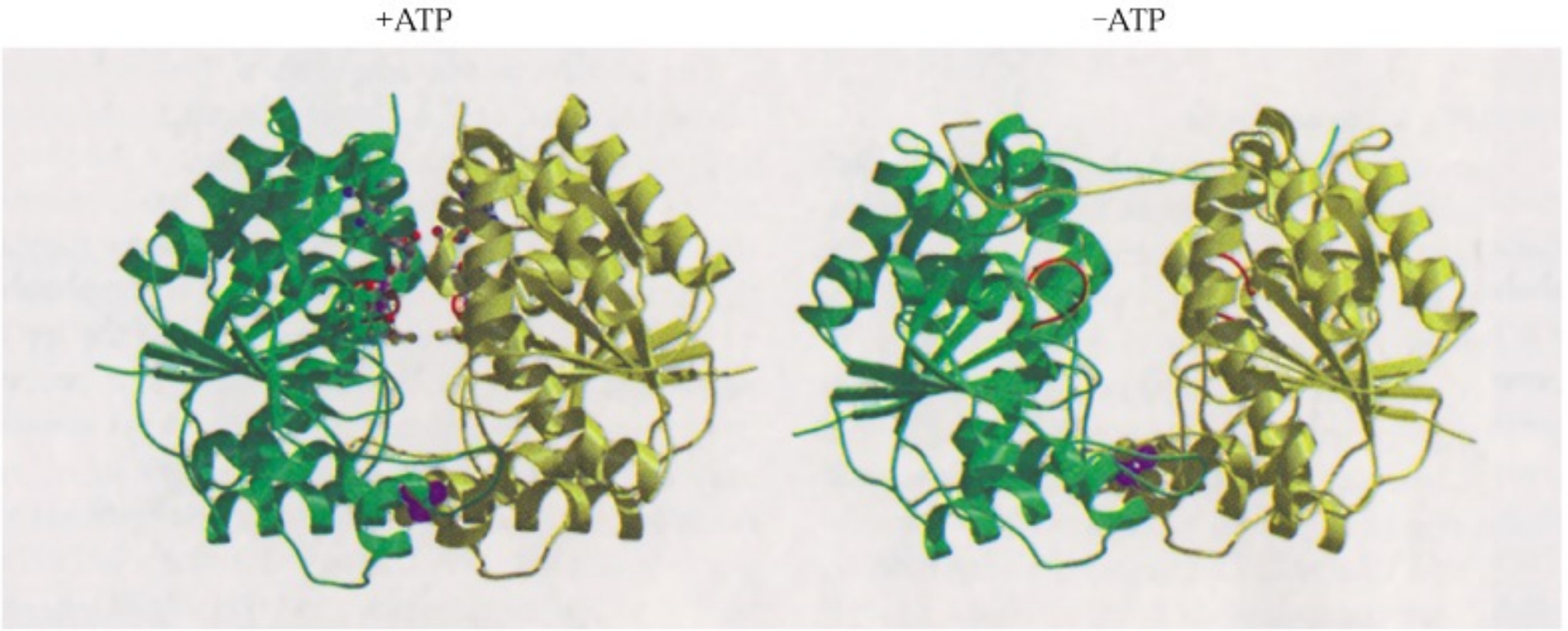
8Fe-7S Eisen-Schwefel-Komplexe

- **Mo–7Fe–9S–X–homocitrate Eisen–Molybdän Cofaktor (FeMoco)**



Die Dinitrogenase-Reduktase

- Homodimer mit einem 4Fe-4S Cluster



Stickstoffkreislauf